الفطريات الصناعية

تأليف

الأستاذ الدكتور
محمد على أحمد
دكتوراه من جامعة جوتنجن - ألمانيا الغربية
استاذ أمراض النبات
كلية الزراعة جامعة عين شمس

الأستاذ الدكتور
محمد عبد الرازق النواوى
دكتوراه من جامعة جوتنجن - ألمانيا الغربية
أستاذ التقنية الحيوية
كلية الزراعة جامعة عين شمس

الطبعة الأولي
١٩٩٩

الدار العربية للنشر والوزيع

رقم الايداع ٩٩/١٥٧٤
الترقيم الدولى I.S.B.N
977- 258-137-

الفطريات الصناعية

الفطريات الصناعية

حقوق النشر محفوظة
للدار العربية للنشر والتوزيع
٣٢ شارع عبـاس العقاد - مدينة نصر
ت : ٢٧٥٣٣٣٥ فاكس : ٢٧٥٣٣٨٨

بِسْمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحْمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

فَأَمَّا ٱلزَّبَدُ فَيَذْهَبُ جُفَآءً ۖ وَأَمَّا مَا
يَنفَعُ ٱلنَّاسَ فَيَمْكُثُ فِى ٱلْأَرْضِ ۚ كَذَٰلِكَ
يَضْرِبُ ٱللَّهُ ٱلْأَمْثَالَ ﴿١٧﴾ سُورَةُ الرَّعْدِ

مقدمــة الناشر

يتزايد الاهتمام باللغة العربية فى بلادنا يوماً بعد يوم. ولاشك أنه فى الغد القريب ستستعيد اللغة العربية هيبتها التى طالما أُمتهنت وأُذلت من أبنائها وغير أبنائها. ولا ريب فى أن إمتهان لغة أية أمة من الأمم هو إذلال ثقافى للأمة نفسها، الأمر الذى يتطلب تضافر جهود أبناء الأمة رجالاً ونساءً، طلاباً وطالبات، علماءً ومثقفين، مفكرين وسياسيين فى سبيل جعل لغة العروبة تحتل مكانتها اللائقة التى اعترف المجتمع الدولى بها لغة عمل فى منظمة الأمم المتحدة ومؤسساتها فى أنحاءالعالم؛ لأنها لغة أمة ذات حضارة عريقة استوعبت - فيما مضى - علوم الأمم الأخرى، وصهرتها فى بوتقتها اللغوية والفكرية؛ فكانت لغة العلوم والأدب، ولغة الفكر والكتابة والمخاطبة.

إن الفضل فى التقدم العلمى الذى تنعم به أوروبا اليوم يرجع فى واقعه إلى الصحوة العلمية فى الترجمة التى عاشتها فى القرون الوسطى. فقـد كان المرجـع الوحيـد للعلوم الطبية والعلمية والاجتماعية هو الكتب المترجمة عن العربية لابن سينا وابن الهيثم والفارابى وابن خلدون وغيرهم من عمالقة العرب. ولم ينكر الأوروبيون ذلك بل يسجل تاريخهم ما ترجموه عن حضارة الفراعنة والعـرب والإغـريق. وهـذا يشـهد بـأن اللغة العربية كانت مطواعة للعلم والتدريس والتأليف، وإنها قادرة عـلى التعـبير عـن متطلبات الحياة وما يستجد من علوم وإن غيرها ليس بأدق منها، ولا أقدر على التعبير.

ولكن ما أصاب الأمة من مصائب وجمود بدأ مع عصر الاستعمار التركى، ثم البريطانى والفرنسى، عاق اللغة من النمو والتطور، وأبعدها عن العلم والحضارة ولكن عندما أحس العرب بأن حياتهم لابد من أن تتغير، وأن جمودهم لابد أن تدب فيه الحياة، اندفع الرواد من اللغويين والأدباء، والعلماء فى إنماء اللغة وتطويرها، حتى أن مدرسة قصر العينى فى القاهرة، والجامعة الأمريكية فى بيروت درستّا الطب بالعربية أول

إنشائهما. ولو تصفحنا الكتب التى ألفت أو تُرجمت يوم كان الطب يدرس فيهما باللغة العربية لوجدناها كتباً ممتازة لا تقل جودة عن أمثالها من كتب الغرب فى ذلك الحين، سواء فى الطبع، أو حسن التعبير، أو براعة الإيضاح، ولكن هذين المعهدين تنكرا للغة العربية فيما بعد، وسادت لغة المستعمر. وفُرضت على أبناء الأمة فرضاً، إذ رأى المستعمر فى خنق اللغة العربية مجالاً لعرقلة تقدم الأمة العربية. وبالرغم من المقاومة العنيفة التى قابلها، إلا أنه كان بين المواطنين صنائع سبقوا الأجنبى فيما يتطلع إليه، فتفننوا فى أساليب التملق له اكتساباً لمرضاته، ورجال تأثروا بحملات المستعمر الظالمة، يشككون فى قدرة اللغة العربية على استيعاب الحضارة الجديدة، وغاب عنهم ما قاله الحاكم الفرنسى لجيشه الزاحف إلى الجزائر: «علموا لغتنا وانشروها حتى نحكم الجزائر، فإذا حكمت لغتنا الجزائر، فقد حكمناها حقيقة».

فهل لى أن أوجه نداءً إلى جميع حكومات الدول العربية بأن تبادر ـ فى أسرع وقت ممكن ـ إلى اتخاذ التدابير، والوسائل الكفيلة باستعمال اللغة العربية لغة تدريس فى جميع مراحل التعليم العام، والمهنى، والجامعى، مع العناية الكافية باللغات الأجنبية فى مختلف مراحل التعليم لتكون وسيلة الاطلاع على تطور العلم والثقافة والانفتاح على العالم. وكلنا ثقة من إيمان العلماء والأساتذة بالتعريب. نظراً لأن إستعمال اللغة القومية فى التدريس ييسر على الطالب سرعة الفهم دون عائق لغوى، وبذلك تزداد حصيلته الدراسية، ويرتفع مستواه العلمى، وذلك يعتبر تأصيلاً للفكر العلمى فى البلاد، وتمكيناً للغة القومية من الازدهار والقيام بدورها فى التعبير عن حاجات المجتمع، وألفاظ ومصطلحات الحضارة والعلوم.

ولا يغيب عن حكوماتنا العربية أن حركة التعريب تسير متباطئة، أو تكاد تتوقف، بل تحارب أحياناً ممن يشغلون بعض الوظائف القيادية فى سلك التعليم والجامعات، ممن ترك الاستعمار فى نفوسهم عُقداً وأمراضاً. رغم أنهم يعلمون أن جامعات اسرائيل قد ترجمت العلوم إلى اللغة العبرية، وعدد من يتخاطب بها فى العالم لا يزيد على خمسة عشر مليون يهودياً، كما أنه من خلال زياراتى لبعض الدول واطلاعى وجدت كل أمة

من الأمم تدرس بلغتها القومية مختلف فروع العلوم والأدب والتقنية، كاليابان، وأسبانيا، ودول أمريكا اللاتينية، ولم تشكك أمة من هذه الأمم فى قدرة لغتها على تغطية العلوم الحديثة، فهل أمة العرب أقل شأناً من غيرها؟!

وأخيراً.. وتمشياً مع أهداف الدار العربية للنشر والتوزيع، وتحقيقاً لأغراضها فى تدعيم الإنتاج العلمى، وتشجيع العلماء والباحثين فى إعادة مناهج التفكير العلمى وطرائقه إلى رحاب لغتنا الشريفة، تقوم الدار بنشر هذا الكتاب المتميز الذى يعتبر واحداً من ضمن ما نشرته ـ وستقوم بنشره ـ الدار من الكتب العربية التى قام بتأليفها أو ترجمتها نخبة ممتازة من أساتذة الجامعات المصرية والعربية المختلفة.

وبهذا... ننفذ عهداً قطعناه على المضى قدماً فيما أردناه من خدمة لغة الوحى. وفيما أراده الله تعالى لنا من جهاد فيها.

وقد صدق الله العظيم حينما قال فى كتابه الكريم

﴿ وقل اعملوا فسيرى الله عملكم ورسوله والمؤمنون، وستردون إلى عالم الغيب والشهادة فينبئكم بما كنتم تعملون ﴾.

«صدق الله العظيم»

محمد دربالة

الدار العربية للنشر والتوزيع



المحتويات

مقدمة

يهدف هذا الكتاب إلى توفير مادةٍ علميةٍ متكاملة عن الاستخدامات التطبيقية للفطريات والخمائر فى التقنية الحيوية الحديثة؛ ففى الماضى، اقتصر استخدام الفطريات على بعض التخمرات الصناعية التى ينتج منها مضادات حيوية، وأحماض عضوية، وكحولات، وغيرها من المواد الكيميائية الحيوية. أما الآن، فلقد زادت مجالات استخدام الفطريات فى نواحى الحياة المختلفة؛ وذلك يشمل المجالات الزراعية والصناعية والطبية، بالإضافة إلى حماية البيئة من التلوث.

وعادةً مايعتقد بعض دارسى الفطريات أن هذه الكائنات الحية الدقيقة ضارة على وجه العموم؛ وذلك لما تسببه من عفنٍ لغذاء الإنسان وممتلكاته، وأمراضٍ له ولنباتاته وحيواناته؛ متجاهلين ذلك الدور الهام الذى تلعبه هذه الفطريات فى اقتصاديات الإنسان.

وربما - من خلال هذا الكتاب - يتضح لأبنائنا الدراسين مدى عِظم الدور الذى تلعبه الفطريات فى حياتنا المعاصرة، وماتمثله لمستقبل البشرية ونحن علَى أعتاب القرن الحادى والعشرين؛ وذلك من خلال مشتقات نواتج التمثيل الغذائى لها، والتى اكُتشف بعضاً منها؛ فغيّر ذلك وجه التاريخ، ومازال الكثير ينتظر كشف النقاب عنه.

وليس هناك مجال للشك فى أن دراستنا للتقنية الحيوية للفطريات سوف تزيح الستار عن ذلك الدور الهام الذى تقوم به الفطريات دون أن نفطن نحن إلى ذلك، فإذا استطعنا أن نكشف بعضاً من هذه النواحى الحيوية لهذه الكائنات الحية النشيطة، كان

فى ذلك العون العظيم لتحسين سبل حياتنا، وتنقية البيئة التى نعيش فيها، والتى عملنا على تلويثها دون أن ندرى أو نقصد.

كما أن دراستنا لهذه الفطريات سوف تساعدنا على الاستفادة منها فى تصنيع أنواعٍ من الأغذية لم نكن نألفها من قبل، وفى تحسين قيمة وطعم أغذيةٍ أخرى مألوفةٍ لنا، بالإضافة إلى الاستفادة من هذا النشاط الحيوى للفطريات فى إنتاج بعض العقاقير الطبية التى قد تكون علاجاً شافياً ـ بإذن الله ـ من أمراض العصر، والتى لانعلم لها علاجاً حتى الآن.

المؤلفان

تمهيد

تعتبر الفطريات أحد المكونات الحيوية الهامة للنظام البيئى ؛ حيث تنتشر فى عديدٍ من البيئات الطبيعية؛ متغذيةً على المواد العضوية والمخلفات النباتية والحيوانية؛ وتلعب خلال ذلك دوراً هاماً فى إعادة تدوير الكربون والعناصر الغذائية الأخرى. ويقدر حجم ماتقوم الفطريات بإعادة تدويره بعدة ملايين من الأطنان من المواد العضوية سنويّـــا ؛ حيث تتوقف حياة الكائنات الحية الأخرى على ماتوفره الفطريات من عناصر أوليةٍ.

وتتداخل الفطريات فى عديدٍ من الأنشطة الإنسانية؛ مؤثرةً فى إنتاجه الإقتصادى؛ سواء إيجابياً أم سلبياً؛ فهى تسبب عديداً من الأمراض الخطيرة؛ سواء للنبات أم للحيوان ؛ وهذا يؤثر تأثيراً بالغاً فى غذاء الإنسان. ولايتوقف مهاجمة الفطريات للمحاصيل المزروعة، ولكنها تهاجم أيضاً الحبوب المخزونة ، وتسبب تدهورها وتلوثها بمواد سامةٍ ذات تأثيراتٍ مسرطنةٍ.

ولقد تغيرت نظرة العالم إلى الفطريات منذ أن اكتشف المضاد الحيوى بنسلين، وماتبعه من إنقاذ أرواح كثير من البشرِ خلال الحرب العالمية الثانية، أو على الأقل أنقذ أطرافهم من البتر. ومنذ ذلك الحين وُضِعت الفطريات فى مكانها اللائق بها.

وهناك عديد من الفطريات الأخرى التى استفاد منها الإنسان منذ نشأته الأولى، حين تَعَلَّم كيف يَصْنع خبزاً جيد التخمر، وجعةً ونبيذاً دون أن يدرى شيئاً عن الفطريات والتخمرات. ومنذ ذلك الحين تستعمل الفطريات فى صناعة أنواعٍ لاحصر لها من الأطعمة والمشروبات التى تعتمد على الفطريات فى إنتاجها.

كما تستعمل الفطريات فى إنتاج الأحماض العضوية والكحولات ذات الاستعمالات الصناعية، بالإضافة إلى عديدٍ من المركبات الهامة ذات الفوائد الطبية. ولقد اختيرت بعض أنواع الفطريات كنموذجٍ للكائنات الحية ذات النواة الحقيقية فى الدراسات الخاصة بالهندسة الوراثية والوراثة الجزيئية والكيمياء الحيوية؛ نظراً لسرعة دورة حياتها وسهولة تنميتها؛ بالمقارنة بالكائنات الحية الأخرى ذات النواة الحقيقية؛ كالنباتات، والحيوانات.

١ - الفطريات فى حياة الإنسان البدائى :

يمكننا أن نتوقع أن أسلافنا من البشر قد استخدموا الفطريات كغذاءٍ، وربما أيضاً فى أغراضٍ أخرى عديدة؛ وذلك منذ بداية عهد الحضارة الإنسانية. ومن المحتمل أن يكون الإنسان البدائى قد جمع ثماراً من عيش الغراب، وجدّ فى البحث عنها بعد أن استطاب طعمها؛ كما نفعل نحن الآن . وليس من المستبعد أن يكون هناك بعض الضحايا الذين سقطوا شهداء التجربة والخطأ، بعد تناولهم لأحد ثمار عيش الغراب السامة.

ولعل أول من سجل استخدام فطريات عيش الغراب كطعام للإنسان هم اليونانيون والرومان ، وكان أقدم رسمٍ لهذه الفطريات ماسجله الرومان فى مدينتهم «بومباى»؛ التى دمرت بفعل ثورةٍ بركانيةٍ عام ٧٩ بعد الميلاد.

وكان أول من ذكر شيئاً عن الأنواع المأكولة من فطريات عيش الغراب هو الفيلسوف اليونانى **Euripides** ؛ وذلك خلال الفترة من ٤٥٦ - ٤٥٠ قبل الميلاد، كما أن عالم النبات **Pliny** شك فى أن تكون فطريات عيش الغراب ضمن الكائنات الحية!.

كما ساد الاعتقاد بين أهالى الرومان القدماء قبل ميلاد السيد المسيح - عليه السلام - بنحو ثلاثة قرونٍ، أن الكمأة - وهى نوع من الفطريات الأسكية ذات الثمار تحت الأرضية المأكولة - تنشأ من البرق الذى ينطلق فى السماء بقوة الإله «جوبيتر»

كبير آلهتهم؛ الذى يرسل سهامه المشتعلة إلى الأرض ؛ فتظهر هذه الثمار العظيمة فى قيمتها الغذائية.

وعرف فراعنة مصر القدماء صناعة الخبز والجعة، وكانوا يعتقدون أن ذلك التخمر إنما هو منحة من الإله الأكبر أوزيريس، ثم أظهر العلم الحديث ـ بعد ذلك بالآف السنين ـ دور فطريات الخميرة فى هذه العملية الهامة.

ولقد استعملت بعض ثمار فطريات عيش الغراب الرفية فى العلاج منذ العصر الحجرى؛ حيث اكْتُشِفَ فى رواسب الثلج المنصهر بجبال الألب قطع من ثمار فطرٍ رفىّ يعتقد أنه للفطرِ ***Piptoporus betulinus*** فى جرابٍ جلدىّ لأحد صيادى الحيوانات ، وُجِدَ مدفوناً، وظل على حالته مجمداً فى الثلج منذ نحو ٥٢٠٠ سنةٍ تقريباً.

وفى ذلك العهد السحيق ، استعملت جراثيم الكرات النافخة **puffbals** كمادةٍ موقفةٍ للنزيف ؛ حيث وُجِدَت كميات كبيرة من هذه الجراثيم محفوظة داخل قواريرَ صغيرةٍ فى فجواتٍ متباعدةٍ على طول السور الذى بناه القيصر الرومانى هارديان (١١٧ ـ ١٣٨ م)؛ لتأمين حدود مملكته. ولقد استمر استعمال جراثيم الكرات النافخة فى تضميد الجروح حتى الحرب العالمية الأولى؛ وذلك عندما كان الحصول على ضمادةٍ طبيةٍ عزيز المنال.

ولعبت فطريات عيش الغراب دوراً هامّاً فى حياة شعب اليوروبا **Yoruba** ؛ وهو شعب زنجى يقيم فى ساحل أفريقيا الغربى بين داهومى والنيجر، وتعتبر ثمار عيش الغراب من مصادر الغذاء التقليدية لهذا الشعب؛ وهم يستعملون أنواعاً منها فى علاج عديدٍ من الأمراض، وأيضاً فى التكهن والاختفاء عن الأعداء وقت الحرب. كما يعجنون الأنواع السامة من فطريات عيش الغراب مع الصمغ، ويجهزون بها سهامهم المسمومة.

وفى الهند يعتقد أتباع العقيدة الهندوسية فى إلهٍ يُدعى **Soma**، والذى يظهر

بجسمه لأتباعه من خلال تناولهم لثمار بعض أنواع فطريات عيش الغراب المؤثرة فى العقل والإدراك، قد تكون تابعةً لفطر عيش غراب الذبابة *Amanita muscaria*. ولقد قَدّسَ هنودُ المكسيك هذا الفطر أيضاً ، واستعملوه خلال طقوسهم الوثنية، وأطلقوا عليه اسم **Soma** . واستخدموا اسم هذا الإله فى التراتيل التى كانوا ينشدونها بعد تناولهم ثمار عيش غراب الذبابة.

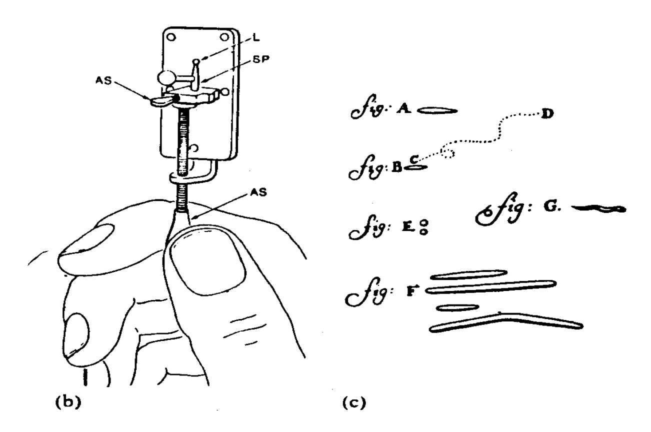
٢- الفطريات فى العصر الحديث :

يعود الفضل فى كشف النقاب عن عالم الأحياء الدقيقة ـ بما فيه الفطريات ـ إلى اختراع المجهر بواسطة العالم الهولاندى ليفنهوك **Antony van Leeuwenhock** عام ١٦٧٣.

ولقد تنبأ كثيرون بوجود الأحياء الدقيقة دون أن يشاهدوها ؛ ففى القرن الثالث عشر، افترض باكون **Roger Bacon** أن الأمراض تنتج عن مسبباتٍ حيةٍ غير مرئيةٍ. وكان ذلك رأى الكثيرين؛ مثل: فيرونا **F.Verona** من علماء القرن السادس عشر، ولانسيز من علماء القرن الثامن عشر.

وعلى الرغم من بدائية المجاهر التى صنعها ليفنهوك ـ والتى تصل إلى ٢٥٠ نظاماً مجهريّاً مختلفاً ـ إلا أنها كانت كافيةً لفحص التراكيب الفطرية، والتعرف على ذلك العالم المجهول الذى لم يَرَه بشر من قبل هذا العالم العظيم.

وفى عام ١٧٢٩ قام عالم النبات الإيطالى ميشيلى **Pietro Antionio Micheli** بتنمية جراثيم الفطريات على بيئاتٍ غذائيةٍ طبيعيةٍ تم تجهيزها من أوراق الأشجار وثمارها؛ حيث لاحظ «ميشيلى» أنه عند إنبات هذه الجراثيم فإنها تعطى نفس نموات الفطر، والتى تحمل ـ بعد ذلك ـ نفس الجراثيم. ولقد قام هذا العالم بفحص التراكيب الفطرية المختلفة، واعتنى بالتفاصيل؛ حيث وصف حوالى ٩٠٠ فطرٍ مختلفٍ.



شكل (١) كيفية استعمال مجهر «ليفنهوك» البسيط فى الفحص، وأيضا يظهر حجم المجهر بالنسبة إلى أصابع اليد.

(L) عدسة مكبرة مثبته بين صفيحتين رقيقتين من المعدن.

(P) عمود معدنى للفحص. يتحرك عن طريق مسمار لولبي (As).

يتم الفحص عن طريق حمل المجهر وتقريبه من العين، مع وضع مصدر ضوئى فى الجهة المقابلة للعدسة. ويوضح الرسم بعض أشكال البكتيريا التى رسمها العالم الهولاندي « ليفنهوك »، وتشمل أشكالاً عصوية وكروية وحلزونية.

ولعل المرحلة الثانية فى علم الفطريات هى ماقدمه الأخوان الفرنسيان **Charles and Louis - Rene Tulanse**؛ حيث لاحظا أن الفطر الواحد يمكنه تكوين أكثر من نوعٍ واحدٍ من الجراثيم. ولقد ساعد ذلك على تنقية الفطريات ودراستها ، وإيضاح دورة حياتها، وطبيعة نموها.

ولقد أصدر العالمان الفرنسيان السابقان كتاباً تضمن نتائج أبحاثهما عن الفطريات بعنوان **Selecta Fungorum Carpologia**؛ وذلك فى الفترة من ١٨٦١ ـ ١٨٦٥. ويعتبر هذا المؤلَّف عن الفطريات من الأعمال العظيمة فى هذا المجال، وكان يتألف من ثلاثة أجزاءٍ، ويضم أشكالاً مختلفةً عن الفطريات وتراكيبها.

وكان أول من سجل شيئاً عن أنوية الفطريات هو العالم الألمانى دى بارى **Anton De Bary** ؛ حيث كان ذلك فى أول كتاب عن الفطريات صدر فى ألمانيا عام ١٨٦٦ ؛ وأدى ذلك إلى فتح الباب أمام العلماء لدراسة الأنوية الفطرية وفهم دورة حياتها، والتى شملت عديداً من أنواع الفطريات.

ولقد تطورت تقنية المزارع النقية للفطريات فى نهاية القرن التاسع عشر، وأصبح الأوتوكلاف متاحاً فى جميع معامل الفطريات عام ١٨٨٠ ، وفى الوقت نفسه تم اكتشاف الآجار، واستعمل فى صناعة البيئات الغذائية الصلبة المستعملة فى تنمية الفطريات فى المعمل.

ومن أول الدراسات التى أجريت لإنماء الفطريات فى مزارع نقية ما أجراه رولاين **Jules Raulin** ؛ وهو أحد تلامذة العالم الفرنسى باستير **Louis Pasteur (1822-1895)**. ودرس رولاين الاحتياجات الغذائية للفطر ***Aspergillus niger***؛ مما سهل من تنقية الفطريات. وأتاح ذلك إمكانية إجراء تجارب فسيولوجية على الفطريات ، وكان أول من قام بمثل هذه الدراسات هو العالم الألمانى كلبس **Georg Klebs** ؛ الذى نشر أبحاثه خلال الفترة من ١٨٩٦ ـ ١٩٠٠ .

ومن ناحية أخرى اهتم كثير من الباحثين بتصنيف الفطريات؛ حيث بدأ هذا العلم بما قدمه العالم السويدى لينيس **Carl von Linne (Linnaeus) 1707 - 1778**؛ والذى ابتكر التسمية الثنائية للأحياء.

وعلى الرغم من المجهودات العلمية الرائعة التى أسهم بها «لينيس» فى وضع دعائم التسمية العلمية للأحياء ، إلا أنه خانه التوفيق فى تسمية بعض الفطريات، بل واعتبر بعضها ديداناً. وعلى أية حال، فإن التصنيف الحديث للفطريات يرجع إلى الباحثين بيرسون **C.H. Persoon** ـ من جنوب أفريقيا ـ وفريس **Elias Fries** ـ من السويد ـ حيث وَضَعَا مبادىء هذا العلم على أساسٍ سليمٍ.

وظهر للعالمين السابقين مؤلفات عن تصنيف الفطريات مزودة برسوماتٍ توضيحية؛ حيث أصدر «بيرسون» كتاباً عام ١٨٠١ بعنوان **"Synopsis Methodica Fungorum"** ، وبعد ذلك بعدة أعوام أصدر «فريس» كتاباً بعنوان **Systema Mycologicaum** فى عام ١٨٢١ ، ثم أصدر طبعةً جديدةً ؛ تضمنت أبحاثاً لأنواعٍ أخرى من الفطريات عام ١٨٣٢ .

وهكذا قدم الباحثان السابقان صورةً حديثةً واقعيةً عن تصنيف الفطريات، ووضعها بين الكائنات الحية الأخرى، فى الوقت الذى سادت فيه نظرية التوالد الذاتى بين علماء ذلك العصر، وكانت الفطريات مازالت كائناتٍ غامضةً يحيطها كثير من الشكوك.

ونشر عالم الطبيعة الإنجليزى دارون **Charles Darwin (1809 - 1882)** كتابه : «أصل الأنواع **Origin of the Species**» عام ١٨٥٩؛ موضحاً فيه نظريته عن تطور الأحياء بعضها من بعض، وألقت هذه النظرية حجراً فى مياه العلم الساكنة، وأصبح التطور شيئاً منطقيـًّـا. وفى أعقاب ذلك ، قدم دى بارى **Anton De Bary** عام ١٨٦٦ نظاماً تقسيميـًّـا للأحياء الدقيقة يتضمن تطورها ؛ مسترشداً بآراء دارون.

وفى منتصف القرن العشرين بدأت الدراسات الوراثية للفطريات، وفحصت الجينات بواسطة المجهر الإلكترونى، واقترح النموذج الحلزونى المزدوج الملتف للحمض النووى **DNA** . وأثر ذلك فى مفهوم علماء العصر الحديث عن الفطريات، وساعدهم على وضع أفرادها فى مكانهم التصنيفى الحقيقى، ثم تطورت هذه الدراسات فى اتجاه الهندسة الوراثية والبيولوجية الجزيئية.

والآن .. ونحن فى نهاية القرن العشرين، وعلى أعتاب القرن الواحد والعشرين، ينغمس علماء الفطريات فى دراسة النواحى التطبيقية لها، ربما فى محاولاتٍ مستمرةٍ لإعادة اكتشافها، والتعرف على قدراتها بما يفيد الإنسانية ويعود عليها بالخير الوفير.

جدول (١) : أهم الأحداث التى أدت إلى تطور مفهومنا عن الفطريات.

عام	الحدث
١٥٩٠-١٦٠٠	محاولات اختراع المجهر الضوئى العادى
١٦٦٥	استعمل العالم الانجليزى R.Hooke المجهر فى فحص الفطريات ورسم أشكال لبعض تراكيبها.
١٦٧٣	فحص العالم الهولاندى Leeuwenhoek فطر الخميرة تحت المجهـر ورسمه.
١٦٩٩	أوضح R.Morison أن الفطريات أحد مكونات الأشنيات Lichens
١٧٢٩	كتب P.A.Micheli تقارير علمية عن تجارب أجراها حول إنبات جراثيم الفطريات والحصول على مزارع نقية منها.
١٧٥٣	اتبع C.Linnaeus نظام التسمية الثنائية فى تسمية الأحياء؛ بما فيها الفطريات.
١٧٦٧	أثبت F.Fontana أن الفطريات يمكنها احداث أمراض للنبات،
١٨٠١	نشر C.H.Persoon كتابا عن تصنيف الفطريات.
١٨٢١-١٨٣٢	نشر E.Fries عدة كتب عن تصنيف الفطريات.
١٨٣١	اكتشف R.Brown النواة فى خلايا النبات.
١٨٣٤-١٨٣٧	نجاح مجموعة من الابحاث التى أوضحت الطبيعة الحيوية للتخمرات.
١٨٣٥-١٨٣٦	أثبت A.Bassi أن الفطريات يمكنها احداث أمراض للحشرات.
١٨٣٨-١٨٣٩	قدم M.J.Schleiden و T.Schwann نظرية الخلية.
١٨٤٤	أثبت D.Gruby أن الفطريات يمكنها إحداث أمراضٍ للإنسان
١٨٦٦	نشر A.De Bary كتاباً عن الفطريات، أوضح فيه وجود النواة داخل هيفات الفطريات.
١٨٦٧	وصف كل من L.R Tulasne & C.Tulasne التكاثر فى الفطريات.

تابع جدول (١) :

عام	الحدث
١٨٧٣	أثبت C.H.Blackley أن الفطريات يمكنها التسبب فى أمراض الحساسية فى الإنسان.
١٨٧٣	أوضح J.Reinke أن الفطريات تكون علاقة مع جذور النباتات الراقية يتبادلان فيها المنفعة، وأطلق عليها اسم «الجذور الفطرية mycorrhizae».
١٨٧٦	درس العالم الفرنسى L.Pasteur دور الأحياء الدقيقة فى صناعة الجعة (البيرة)؛ مثبتاً خطأ نظرية التوالد الذاتى التى كانت شائعة بين أوساط المثقفين حتى الثلث الأخير من القرن التاسع عشر.
١٨٧٩	نشر أول مجلة علمية متخصصة فى أبحاث الفطريات تحت اسم Revue mycologique فى فرنسا.
١٨٩٨-١٩٠٠	أجرى G.Klebs أول تجارب فسيولوجية لإنماء الفطريات ودراسة احتياجاتها الغذائية.
١٩٠٠	إعادة اكتشاف قوانين مندل الوراثية.
١٩٠٦	وصف A.F.Blakeslee الأسس الوراثية للتكاثر الجنسى.
١٩٢٩	اكتشف A.Fleming المضاد الحيوى بنسلين.
١٩٣١	تأسيس الجمعية الأمريكية لعلم الفطريات Mycological Society of America.
١٩٤١	وصف كل من G.Beadle وE.L.Tatum كيفية تحكم الجينات فى التفاعلات الكيموحيوية فى الفطريات.
١٩٤٥	عمل كل من G.Beadle وE.L.Tatum على حث العزلات الفطرية لعمل طفرات جديدة، والاستفادة من السلالات الناتجة.
١٩٥٢	سجل I.Manton وزملاؤه مشاهداتهم للفطريات باستعمال المجهر الإلكترونى.
١٩٥٣	إقترح J.D.Watson و F.H.Crick النموذج الحلزونى لتركيب الحمض النووى DNA.

٣- دور الفطريات في التقنية الحيوية :

لقد ساد الدور الذى لعبته الفطريات فى المجتمعات البشرية منذ نشأة حضارة الإنسان إلى يومنا هذا، إلى درجة أنه يمكن القول بأن الفطريات هى أكثر الكائنات الحية الدقيقة التى استفاد منها الإنسان عبر تاريخه الطويل.

وشملت الاستخدامات التقليدية للفطريات إنتاج غذاءٍ للإنسان وإكسابه طعماً ونكهةً جيدةً. وكذلك الإنتاج الحيوى لبعض المواد الكيميائية؛ مثل حمض الستريك والمضادات الحيوية كالبنسلين . كما استخدمت فطريات الخميرة فى المجتمعات البشرية القديمة؛ وذلك فى تجهيز الخبز، وإنتاج المشروبات الكحولية، دون أن يفطن الإنسان ـ حينذاك ـ إلى دور الفطريات فى إحداث التخمر.

واستُخْدمت الفطريات الهيفية ـ أيضاً ـ لتسوية بعض أنواع الجبن وتحسين نكهتها، كما استُعْملت أنواع أخرى من هذه الفطريات فى آسيا لتجهيز بعض الأغذية الشعبية هناك ؛ مثل السوفو **Sufu** والتمبى **Tempeh** ، وكذلك الميسو **Miso** الذى يستعمل ـ عادةً ـ كفاتح للشهية.

ومن ناحيةٍ أخرى، تعتبر زراعة عيش الغراب من الطرق الشائعة فى جميع أنحاء العالم لإنتاج غذاءٍ بروتينيٍ من الفطريات ؛ حيث بدأ الإنسان فى الاعتماد عليها كمصدرٍ هامٍ لغذائه منذ فجر التاريخ. وتعتبر زراعة عيش الغراب من المشروعات العملاقة العالية القيمة الاقتصادية فى أوروبا والولايات المتحدة، بينما تعتبر مصر حديثة العهد فى هذا المجال الذى بدأ تجارياً فى منتصف الثمانينات من هذا القرن.

وينحصر الإنتاج التجارى لفطريات عيش الغراب بأوروبا والولايات المتحدة فى زراعة عيش الغراب العادى ***Agaricus bisporus*** ،وبعض الأنواع الأخرى الوثيقة الصلة به، بينما يمثل إنتاج فطر عيش الغراب المحارى ***Pleurotus ostreatus*** نسبةً محدودةً من إجمالى الإنتاج العالمى. إلا أن فطر عيش الغراب المحارى يزرع بوفرةٍ فى دول شرق آسيا، وفى مصر، وبعض الدول العربية الأخرى ؛ لسهولة زراعته وقبوله كغذاءٍ بروتينيٍ معتدل السعر فى مثل هذه الدول.

ومن التطبيقات العملية الحديثة لاستعمال الفطريات فى الصناعات الغذائية ، إنتاج المواد المكسبة للطعم والرائحة (المنكهات) ، والمواد الملونة (الصبغات)، بالإضافة إلى إنتاج المواد البروتينية التى تستعمل فى إنتاج أغذيةٍ بروتينيةٍ خاليةٍ من اللحم، والتى يطلق عليها اسم «البروتين الفطرى **mycoprotein**» .

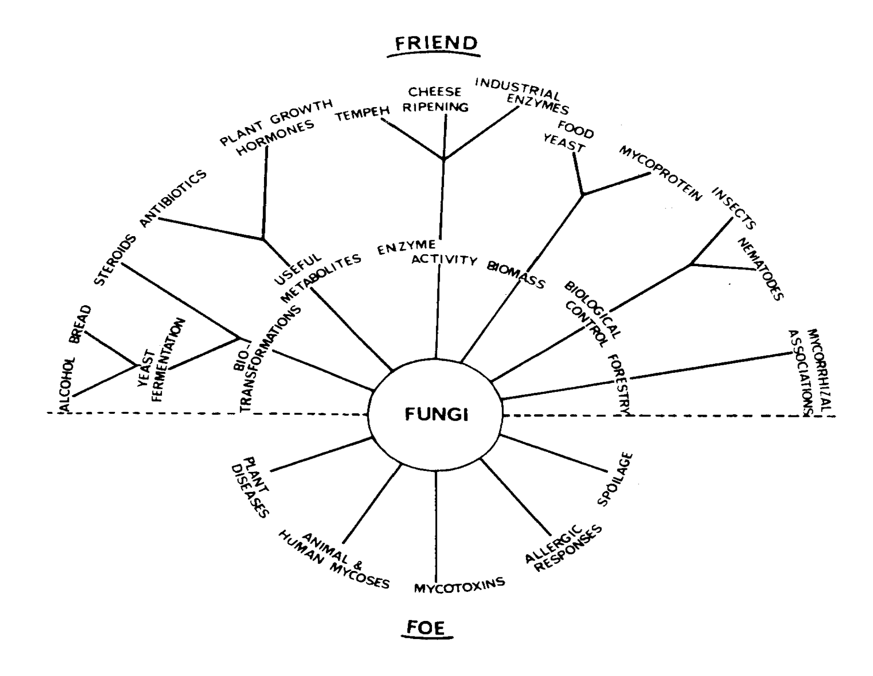
ويعتبر الكورن **Quorn** أفضل مثالٍ يمكن أن نشير إليه للأغذية البروتينية ذات المنشأ الفطرى، والتى تتميز بمذاق اللحم ورائحته ، إلا أنها منخفضة الطاقة، وخالية من الكوليسترول؛ لذلك تعتبر أحد الأغذية الصحية التى يمكن التوصية بها للباحثين من أجل الرشاقة.

ومن النواحى الاقتصادية الهامة الأخرى للفطريات، استخدامها فى الصناعة لإنتاج مواد كيميائيةٍ حيويةٍ؛ ومثال ذلك الأحماض العضوية؛ كالستريك**citric**، والفيوماريك **fumaric** ، واللاكتيك **lactic**، والإيتاكونيك **itaconic**، وأيضاً تخليق بعض الهورمونات الفطرية كالجبرلينات **gibberellins**.

وبالإضافة إلى ماسبق، تنتج بعض الفطريات مضاداتٍ حيويةً؛ مثل البنسلين الذى أمكن بعد ذلك إنتاجه صناعياً فيما يسمى بـ «البنسلين نصف المخلق **semisynthetic penicillin**». ولقد لعب اكتشاف البنسلين دوراً هاماً وحاسّماً خلال معارك الحرب العالمية الثانية؛ حيث أنقذ أرواح كثيرٍ من البشر، أو – على الأقل – أنقذ أطرافهم من البتر.

ومن المواد الحيوية الأخرى التى تنتجها الفطريات – التى تم اكتشافها مؤخراً – تلك المواد المضادة للتورمات **antitumour agents** ، والمواد الشبيهة بالسيكلوسبورين المعدلة لمناعة الجسم **immunomodulators - like cyclosporin** ؛ وقد ظهرت أهميتها فى عمليات نقل الأعضاء البشرية.

كما تستخدم بعض الفطريات الهيفية وفطريات الخمائر فى تحويل أو تعديل تركيب بعض المركبات الحيوية الهامة ذات الاستخدامات الطبية؛ مثل مادة الكورتيزون **corti-sone**؛ حيث يستخدم لهذا الغرض فطريات معدلة وراثياً.



شكل (٢) : بعض أنشطة الفطريات المؤثرة فى حياة الإنسان (عن Moss , 1987)

ولقد تطورت وسائل استخدام الفطريات فى المجالات الزراعية المختلفة، وفى حماية البيئة من التلوث؛ فيما يسمى بـ «التقنية الحيوية البيئية **environmental biotechnology**» . وكذلك أمكن استخدام أنواعٍ عديدةٍ من الفطريات فى التقنية الحيوية الصناعية **industrial biotechnolgy** ، هذا .. بالإضافة إلى تلك الاستخدامات التقليدية لاستخدام الفطريات فى الصناعات المعتمدة على التخمرات.

ولقد أظهرت الأبحاث الحديثة إمكانية استخدام بعض الفطريات فى نواحٍ صناعيةٍ جديدةٍ؛ مثل استخدامها فى إسالة الفحم لإنتاج وقودٍ سائلٍ ، وفى تحليل اللجنين فى صناعة الورق، وفى إزالة الأيونات المعدنية والجزيئات غير الذائبة من المحاليل، وإزالة البارافينات من وقود الطائرات ، وغير ذلك من مجالاتٍ تطبيقيةٍ صناعيةٍ هامةٍ.

وأيضاً .. استخدمت عديد من الأنواع الفطرية فى مجالات التنقية الحيوية للبيئة؛ مثل معالجة النفايات الضارة، وخاصة تلك المحتوية على مواد سامة كالسيانيد، وكذلك فى إزالة تلوث التربة الزراعية بالمبيدات السامة المستخدمة فى مكافحة الآفات، وغير ذلك من مواد كيميائيةٍ أخرى ضارةٍ.

ونظراً للدور الحيوى الهام الذى تلعبه الفطريات فى الأنشطة الإنسانية المختلفة، فإنه يجب علينا الاهتمام بدراسة هذه الفطريات فى بيئتها الأصلية؛ حتى نحصل على أقصى معلوماتٍ ممكنةٍ عن طبيعة نموها وصفاتها، وكيفية توريث صفاتها لأجيالها التالية. فإذا ماتم لنا ذلك، أمكننا استغلال هذه الفطريات فى التقنيات الحيوية المختلفة استغلالاً نموذجياً.

ولقد تمكن العلماء ــ فى الأونة الأخيرة ــ من تعديل صفات جينوم **genome** بعض الفطريات الهيفية والخمائر ، فيما يسمى بـ «الهندسة الوراثية». ولقد فتح ذلك آفاقاً واسعةً لمزيد من الاستخدامات التطبيقية للفطريات فى مختلف التقنيات الحيوية. ولقد أدى ذلك إلى استخدام بعض فطريات الخميرة المعدلة وراثياً فى إنتاج الإنترفيرون **interferon** ، كما أمكن استخدام كروموسومات الخميرة فى رسم خرائط الجينوم البشرى.

ومن الاكتشافات العلمية الباهرة ماقدمه المركز القومى البريطانى للتكنولوجيا الحيوية (عام ١٩٩١) ، من نتائج دراساتٍ باحثيه على بعض سلالات الخميرة المعدلة وراثياً ، والتى يمكنها بناء الهيموجلوبين. وسوف يفتح هذا الاكتشاف العلمى المجال واسعاً لإنتاج دمٍ حقيقيٍ للإنسان ، وليس بلازما فقط.

كما استخدمت الخميرة مؤخراً فى توليد الكهرباء ، فيما يسمى ببطارية الخميرة **Yeast Powered Cell**؛ حيث أمكن استخدام مثل هذه البطاريات فى توليد طاقةٍ كهربائيةٍ تكفى لتشغيل ساعةٍ رقميةٍ أو آلةٍ حاسبةٍ. ومازالت هذه الأبحاث جاريةً لتطوير الاستفادة من هذه الطاقة الكهربائية.

٤ - تطور التقنية الحيوية للفطريات :

اعتمدت دراسة الفطريات وعلاقتها بالإنسان على محورين أساسيين، كان أولهما هو اهتمام الإنسان بجمع ثمار عيش الغراب البرية للتغذية عليها، بينما اختص الثانى بدور الفطريات فى إصابة النباتات ودورها فى إحداث أمراضٍ خطيرةٍ لها، هددت الإنسان فى غذائه وصحته.

ومازال الإنسان يهتم بجمع ثمار الأنواع البرية من فطريات عيش الغراب، برغم خطورة وجود بعض الأنواع السامة التى قد تجد طريقها خطأً إلى غذائه ؛ مسببةً له أضراراً صحيةً قد تؤدى – فى بعض الحالات – إلى تهديد حياته.

ولقد اهتمت كثير من الجمعيات العلمية بتقديم النصائح للمهتمين بجمع هذه الثمار البرية من عيش الغراب ؛ مثل الجمعية البريطانية للفطريات **British Mycological Society**، والجمعية الأمريكية للفطريات **American Mycological Society**، وغيرهما من الجمعيات الأخرى فى عديدٍ من دول أوروبا.

ومن ناحية أخرى كانت بداية دراسة نشاط الفطريات فى بيئة الإنسان ممثلة فى تلك الأنواع الفطرية الممرضة للنبات، وخاصةً بعد اختراع المجهر ، وأصبح من المتيسر

مشاهدة الأنواع المختلفة من الفطريات. ومنذ ذلك الحين يدور علم الفطريات في فلك علماء النبات؛ مبتعداً عن اهتمامات علماء الأحياء الدقيقة الأخرى الذين انشغلوا بدراسة البكتيريا ونشاطها الحيوى.

ولم يَدُم الحال السابق طويلاً ؛ فمع بداية القرن الحالى ـ القرن العشرين ـ بدأ علماء الفطريات وباحثوها فى الاهتمام بدراسة الدور الحيوى الهام الذى تقوم به الفطريات فى البيئة من حولنا، وعلاقتها بالكائنات الحية الأخرى. ولقد أسفرت هذه الدراسات عن إبراز أهمية الفطريات فى مجالات عديدةٍ أخرى، بالإضافة إلى كونها ممرضات نباتية.

فعلى سبيل المثال، أظهرت الدراسات مدى أهمية الفطريات فى خصوبة التربة؛ نظراً لقدرتها على تحليل المواد العضوية المعقدة، وتحويلها إلى دبالٍ **humus**، وكذلك أهمية فطريات الميكوريزا التى تنمو متعاونة مع جذور النباتات الحولية والعشبية والأشجار، محسنةً من نموها وحصولها على العناصر الغذائية اللازمة لنموها حتى فى الأراضى الفقيرة.

ولقد شارك عديد من علماء الأحياء الدقيقة فى إظهار مدى أهمية الفطريات فى زيادة خصوبة التربة الزراعية، مثال ذلك العالم **S. Waksman** ورفاقه؛ الذين قاموا ـ أيضاً ـ بإلقاء الضوء على أهمية استخدام بعض الفطريات فى الإنتاج الحيوى لبعض الأحماض العضوية؛ مثل استخدام الفطر ***Rhizopus*** فى إنتاج حمض الفيوماريك.

وفى أواخر ثلاثينيات القرن الحالى ، بدأ **Waksman** برنامجاً بحثيـّاً يهدف إلى عزل بعض الفطريات والإكتينومايستات ذات القدرة العالية على إنتاج مضاداتٍ حيويةٍ جديدةٍ. ولقد تُوجت هذه الأبحاث بحصول هذا العالم على جائزة نوبل فى مجال الفسيولوجى والطب ـ بالاشتراك مع العالم **A. Schatz** ـ وذلك عام ١٩٥٢؛ لاكتشافه المضاد الحيوى ستربتوميسين **Streptomycin** ؛ الذى لعب دوراً هامّاً فى

مكافحة مرض السل وغيره من الأمراض الخطيرة الأخرى التى تصيب الإنسان والحيوان.

وحتى نهاية عشرينيات هذا القرن ، كان معدل التقدم فى الاستخدامات التطبيقية للفطريات فى النواحى الصناعية محدوداً نسبياً ، حيث لم يتعدَّ الطرق التقليدية فى استخدام الخمائر فى صناعة الخبز والمشروبات الكحولية، بالإضافة إلى إنتاج الأحماض العضوية؛ مثل حمض الستريك.

وفى عام ١٩٢٨ تم اكتشاف عديدٍ من المركبات الحيوية الناتجة عن التمثيل الغذائى للفطريات والتى لم تظهر أهميتها التطبيقية فى ذلك الوقت. وبعد مرور سنواتٍ عديدةٍ ، أظهرت الأبحاث العلمية أهمية هذه المركبات فى علاج كثيرٍ من الأمراض. ولقد دفع ذلك عديداً من الباحثين إلى إعادة دراسة فسيولوجى الفطريات ، ونواتج التمثيل الغذائى الأولى والثانوى.



الباب الأول

الفطريات .. نشاطها وتركيبها



الفطريات .. نشاطها وتركيبها

١ ـ وحدة التركيب :

تتضمن الفطريات مجموعة من الكائنات الحية الخالية من الكلوروفيل. وهى تشبه النباتات الخضراء فى أن لكل منها جداراً خلوياً محدداً، عدا بعض الشواذ. ويتركب جسم الفطر من مجموعة من النموات الخيطية يطلق عليها اسم «هيفات **hyphae**» (مفردها **hypha**) . وتتجمع هذه النموات الفطرية فيما بينها مكونةً مايسمى بالغزل الفطرى (الميسليوم **mycelium**) .

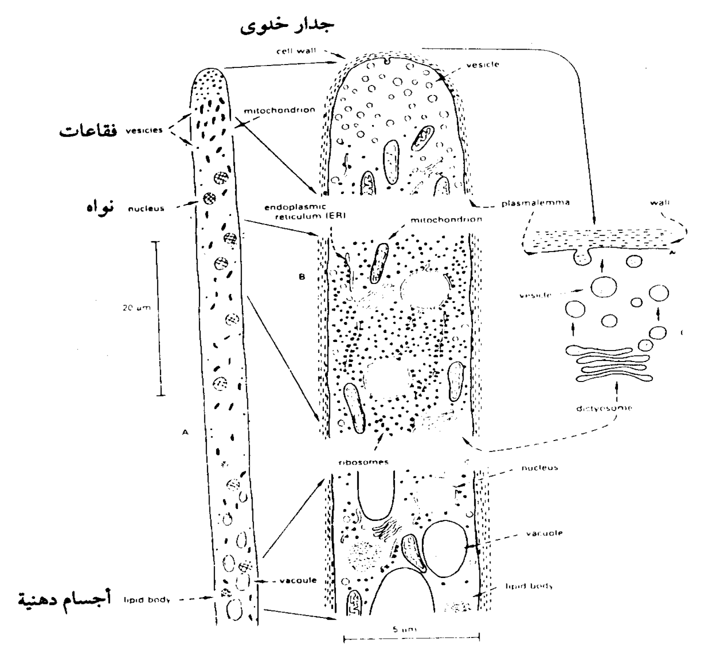
وتنمو هيفات الفطر طرفياً، ولكن معظم أجزاء الجسم الفطرى **thallus** لديه القدرة الكامنة على النمو؛ فأية فتيتةٍ من أى جزءٍ منه تكفى لبدء حياةٍ جديدةٍ، مكونةً هيفات الفطر وتراكيبه المميزة. ويختلف الجسم الفطرى عن النباتات الراقية فى كون الأول بسيط التركيب، ولايوجد به الجهاز الوعائى الذى يميز النباتات الراقية.

وتُظهر الدراسات الحديثة تشابه خلايا الفطر مع خلايا النباتات الراقية؛ وذلك من ناحية وجود أنويةٍ حقيقيةٍ بها، وأغشيةٍ نوويةٍ، وميتوكوندريا، وشبكة إندوبلازمية، بينما تسبح الريبوسومات فى السيتوبلازم، أو قد تتعلق بأغشية الشبكة الإندوبلازمية.

وهناك عديد من الفجوات العصيرية التى توجد داخل الخلية الفطرية، يختزن بداخلها بعض المواد الغذائية؛ مثل: الجليكوجين، والدهون (الليبيدات)، والفوليوتين **volutin** ؛ وهو مركب معقد من الميتافوسفات.

ويحاط بروتوبلازم خلايا الفطر بغشاءٍ بلازمى شبه منفذٍ، يغلف من الخارج بجدارٍ

صلب منفذ. وفى معظم الفطريات يعتبر الشيتين **chitin** ـ وهو معقد من خلات الجلوكوز أمين **n-acetylglucosamine** ـ المكوّن الأساسى للجدار، بينما يتكون جدار الخمائر من معقد المانوز **mannose** (مانانات **mannans**) ، والجلوكوز (جلوكانات **glucans**).



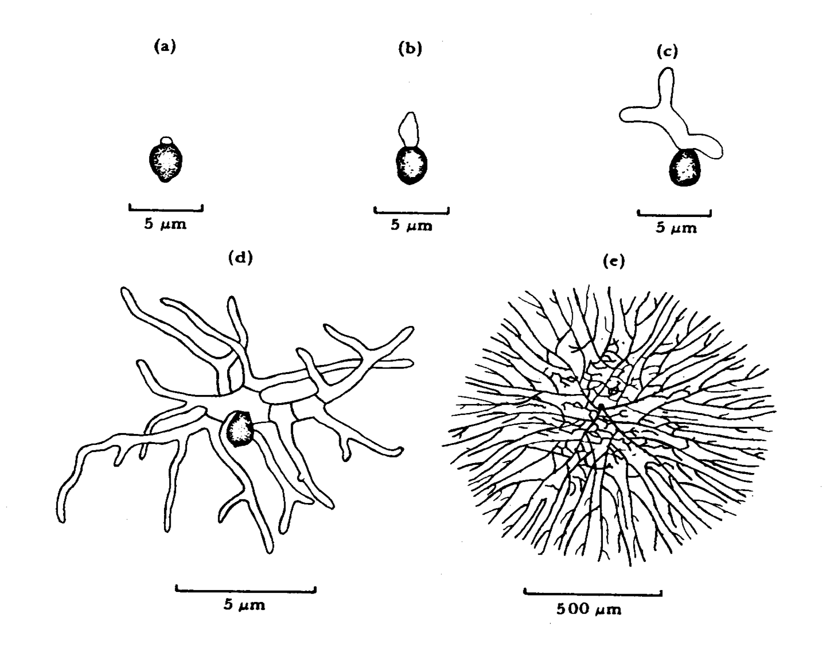
شكل (٣) التركيب الدقيق فى قطاع طولى للفطر *Pythium* عند منطقة القمة.

A = رسم تخطيطى.

B = رسم مكبر تفصيلى يعتمد على الفحص بالمجهر الاليكترونى.

C = رسم يوضح كيف يتم تكوين الفقاعات من الديكتوسومات لتكوين غشاء سيتوبلازمى جديد عند منطقة القمة النامية، وبناء مواد جدارية جديدة.

وتمتلىء القمة النامية النشطة لهيفا الفطر بالريبوسومات والميتوكوندريا، بالإضافة إلى بعض الفقاعات الصغيرة التى تتجمع مكونةً الجدر العرضية والجسيمات والإنزيمات. أما فى الأجزاء الهيفية الأكثر عمراً والأقل نشاطاً، فإنها تكون ممتلئةً بعديدٍ من الفقاعات التى تملأ حيزاً كبيراً من السيتوبلازم.



شكل (٤) : تطور نمو مزرعة فطرية من جرثومة منفردة.
(a) – المظاهر الأولية لبداية الإنبات.
(b) – ظهور أنبوب الإنبات.
(c - d) – تفرع الهيفات المتكونة.
e – مستعمرة صغيرة دائرية الشكل.

وينشأ ميسليوم الفطر ـ عادةً ـ نتيجة إنبات جرثومةٍ؛ حيث يتكون أنبوب إنباتٍ ينمو بسرعةٍ من قمته، ثم يتفرع إلى فريعاتٍ متعددةٍ. وتنمو هيفات الفطر مستكشفةً مايحيط بها، ومتأثرةً بالبيئة التى تنمو فيها، مبتعدةً عن مركز نموها تحت التأثير السلبى لنواتج تمثيلها الغذائى **negative chemotropism** .

ويختلف الوقت اللازم للنمو الفطرى؛ حتى تتكون مستعمرة يمكن رؤيتها بالعين المجردة من ساعاتٍ قليلةٍ إلى عدة أيامٍ. ويتوقف ذلك على عديدٍ من العوامل؛ لعل أهمها: نوع الفطر، وتوفر العناصر الغذائية اللازمة لنموه، والرطوبة النسبية الجوية حوله.

وعادةً مايطلق على النموات الفطرية اسم «مستعمرة **colony**» ، والتى يمكن فحصها بواسطة عدسةٍ مكبرةٍ قويةٍ أو بالقوة الصغرى للمجهر. وتشاهد خلال هذا الفحص شبكة من نمواتٍ خيطية الشكل، يطلق على كلٍّ منها اسم هيفا **hypha** (وجمعها هيفات **hyphae**) .

وتعتبر الهيفات خيوطاً أسطوانيةً متفرعةً، تحتوى على سيتوبلازم تسبح فيه عديد من الأنوية الحقيقية. وتتجمع الهيفات مكونةً جسم الفطر (الثالوس الفطرى **thallus**) ، بينما يطلق على هيفات الفطر النامية فى مكانٍ ما «الميسليوم **mycelium**» . وقد تقسم خيوط الهيفات الفطرية بجدرٍ عرضية ، وتعرف بالهيفات المقسمة **septate hyphae** ، وهذه الهيفات تميز الفطريات الراقية. أما الفطريات غير الراقية، فتكون هيفاتها غير مقسمةٍ **aseptate hyphae** ؛ حيث تسبح أنويتها فى مدمجٍ خلوىٍ **coenocytic hy-phae** .

ويتم تفرع الهيفات الفطرية على طول محورها الأصلى تفرعاً أحادى الشعبة **mon-opodial** ، وينتج عن هذا التفرع المتكرر نموات هيفية جانبية تتوقف كثافتها على نوع الفطر والظروف المحيطة. ولايتم التفرع أسفل القمة النامية للهيفا مباشرةً، بل تترك ـ عادةً ـ مسافةً بعد النمو القمى للمحور الأصلى للهيفا دون تفرعٍ؛ مما يؤدى إلى استمرار النمو الطولى للهيفا؛ مخترقةً المادة التى تنمو عليها.

وتكون هيفات الفطر وثيقة الاتصال بالمادة العضوية التى تنمو عليها؛ حيث تستمد غذاءها عن طريق الانتشار الغشائى المباشر. وتفرز هيفات الفطر مجموعةً متباينةً من الإنزيمات الخارجية المحللة للمواد العضوية، تساعد على استفادة الفطر من مختلف المواد العضوية فى غذائه. كما يعمل نمو الهيفات وتفرعها على زيادة تلامسها مع تلك المادة العضوية التى ينمو عليها الفطر.

وعند نمو هذه الهيفات الفطرية على سطح بيئةٍ صلبةٍ، فإنها تنمو فى جميع الاتجاهات على ثلاثة مستوياتٍ ؛ مكونةً مستعمرةً ذات شكلٍ محدبٍ. وينمو على سطح المستعمرة هيفات هوائية **aerial hyphae** ، بينما تخترق بقية الهيفات المادة العضوية التى ينمو عليها الفطر.

وتساعد الإنزيمات المحللة التى تفرزها هيفات الفطر على اختراقها للمواد العضوية الصعبة التى تنمو عليها؛ حيث ترتبط قدرة الهيفات الفطرية على اختراق مثل هذه المواد العضوية بمدى التهوية المتاحة.

ويظهر على المحيط الخارجى للمستعمرة الفطرية أطراف القمم النامية لهيفات الفطر وفروعها الجانبية؛ حيث تنمو المحاور الرئيسية لهذه الهيفات بطريقةٍ متوازيةٍ، بينما تتداخل الفريعات الجانبية بعضها مع بعض مكونةً شكلاً شبكياً.

وتتركز أقدم هيفات الفطر عمراً فى مركز المستعمرة؛ حيث تظهر عليها التراكيب الفطرية الحاملة للوحدات التكاثرية، والتى يسهل تمييزها عن الهيفات الفطرية العادية عند الفحص المجهرى.

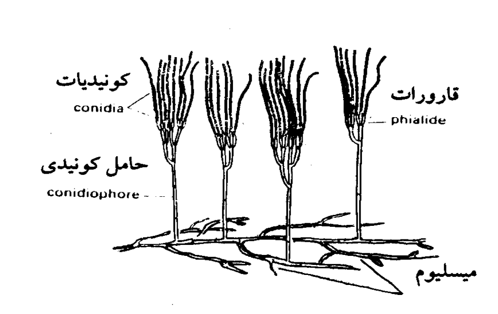
٢- الوحدات التكاثرية :

يطلق على الوحدات التكاثرية الفطرية ــ عادةً ــ اسم جراثيم **spores** (من اللاتينية **spora** بمعنى بذرة **seed**) ؛ فعلى سبيل المثال يحمل فطر العفن الأخضر من الجنس ***Penicillium*** جراثيمه على حاملٍ ينمو عمودياً متفرعاً من هيفا أفقية. وينتهى هذا

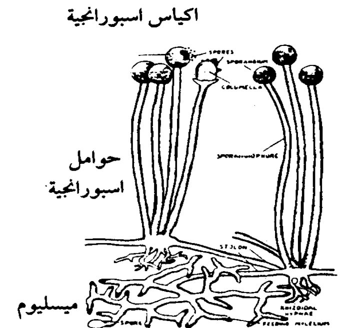
الحامل بطرفٍ متفرعٍ يشبه فى شكله المكنسة **broom-like structure**؛ حيث تتكون الشعرة الواحدة منها من سلسلةٍ طويلةٍ من الجراثيم الصغيرة الكروية الشكل.

وفى فطر عفن الخبز من الجنس ***Rhizopus*** يحمل الحامل الجرثومى رءوساً سوداء كروية الشكل. وعند تحضير شريحةٍ من هذا الفطر، تنسحق تلك الرءوس الكروية السوداء (الأكياس الأسبورانجية **sporangia** – ومفردها **sporangium**)، وتخرج منها جراثيم بيضاوية الشكل داكنة اللون.

وتختلف جراثيم الفطر فى أحجامها؛ فهى تتراوح بين عدة ميكرونات – كما هى الحال فى جراثيم الفطر ***Penicillium*** – وأكثر من ٢٠٠ ميكرونٍ كما فى جراثيم بعض الأنواع التابعة للجنس ***Helminthosporium*** . وعلى الرغم من كبر حجم بعض الجراثيم، إلا أنها تتميز بخفة وزنها إلى درجة يسهل معها حملها بتيارات الهواء ونثرها بعيداً عن أماكن تكوينها.



شكل (٥): ميسليوم وحوامل كونيدية وكونيديات الفطر *Penicillium* .



شكل (٦): ميسليوم وحوامل وأكياس سبورانجية للفطر *Rhizopus* .

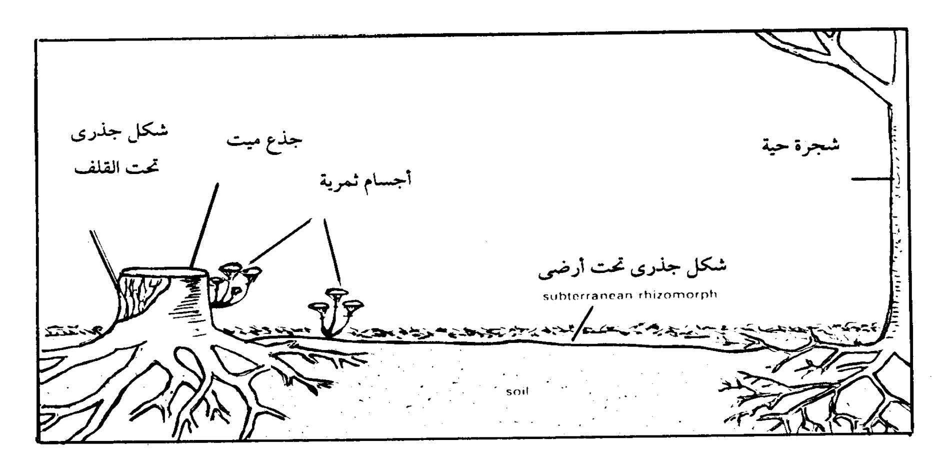
وتبقى جراثيم الفطريات محتفظةً بحيويتها لفترةٍ تطول أو تقصر تبعاً لنوعها (جنسيةٍ - لاجنسية)، وأيضاً لتركيبها. وهناك تراكيب فطرية أخرى تعمل على بقاء الفطر حيًّا لفتراتٍ طويلةٍ؛ ومثال ذلك الأجسام الحجرية **sclerotia** (ومفردها **sclerotium**) التى تكونها بعض الفطريات؛ مثل فطر الأرجوت ***Claviceps purpurea*** .

وتتكون هذه الأجسام الحجرية من كتلٍ صغيرةٍ من هيفات الفطر المندمجة، التى تحاط من الخارج بطبقةٍ سميكةٍ داكنة اللون. وتعمل هذه الطبقة على حماية المحتويات الداخلية من الجسم الحجرى من الجفاف والأشعة فوق البنفسجية ودرجات الحرارة الشديدة الارتفاع أو الانخفاض.

ومن التراكيب الفطرية اللاجنسية الأخرى - التى تعمل على احتفاظ الفطر بحيويته لفتراتٍ طويلةٍ - الجراثيم الكلاميدية **chlamydospores**؛ والتى تتكون - بصفةٍ عامةٍ - داخل هيفات الفطر المقسمة. وتتميز هذه الجراثيم بجدارها السميك، ومحتوياتها من السيتوبلازم ذى القوام الزيتى الثقيل.

وتعمل عديد من الفطريات البازيدية التى تنمو هيفاتها داخل الكتل الخشبية - مسببةً تحللها - على تكوين حبال ميسليومية **mycelial cords** تتميز بسمكها وشكلها الذى يشبه أربطة الأحذية، والتى يطلق عليها اسم الأشكال الجذرية **rhizomorphs**. ويتكون الشكل الجذرى نتيجة تجمع هيفاتٍ متوازيةٍ بعضها مع بعضٍ فى تركيبٍ فطريٍ ممتدٍ يسمح لها بالنمو من قواعد الأشجار المصابة إلى مايحيط بها من أشجارٍ أخرى سليمةٍ.

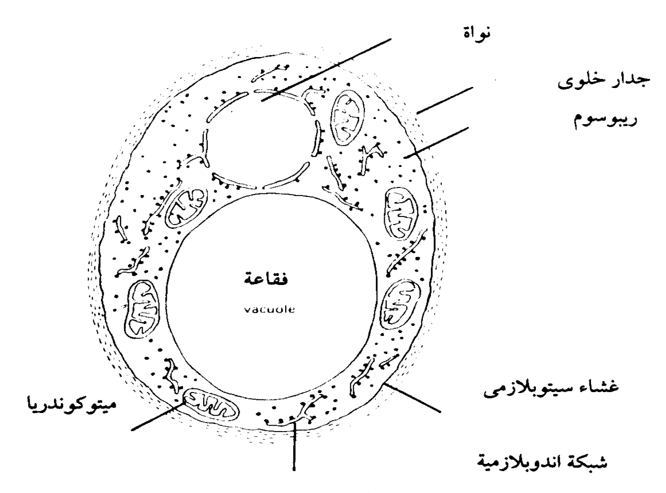
وتنمو مثل هذه الأشكال الجذرية بسرعةٍ كبيرةٍ ، تصل إلى ستة أضعاف سرعة نمو الهيفات العادية، كما أنها يمكنها النمو لمسافاتٍ بعيدةٍ تصل إلى حوالى عشرة أمتارٍ. ومن أمثلة الفطريات المكونة لها فطر عيش غراب العسل ***Armellaria mellea*** المسبب لمرض عفن الجذور العيش غرابى لعديدٍ من الأشجار.



شكل (٧) : فطر عيش غراب العسل *Armellaria mellea*. رسم يوضح طريقة نمو الأشكال الجذرية ومهاجمتها لجذور الاشجار السليمة البعيدة.

وفى بعض الفطريات يختزل النمو الميسليومى، ولاتتكون هيفات فطرية، بل يكوّن الفطر خلايا منفردةً وحيدةً صغيرة الحجم. وتنقسم هذه الخلايا مكونةً وحداتٍ أخرى تبقى لفترةٍ على الخلية الأم، ثم تتحرر بعد ذلك. وأحياناً يتم الانقسام والتحرر فى وقتٍ واحدٍ.

ومن أمثلة الفطريات السابقة الخمائر **yeasts**؛ حيث تنمو خلية الخميرة حتى تصل إلى أقصى حجمٍ لها، ثم تنقسم بعد ذلك. وهناك طريقتان لانقسام خلايا الخميرة : الأولى فى حالة الخمائر المنقسمة **fission yeasts** ؛ حيث تنقسم الخلية التامة النمو إلى خليتين متشابهتين فى الشكل والحجم، ثم تنمو الخلايا المنقسمة بعد ذلك، وتعاود الانقسام بعد استكمال نموها... وهكذا، مادامت هناك وفرة فى العناصر الغذائية اللازمة للنمو.

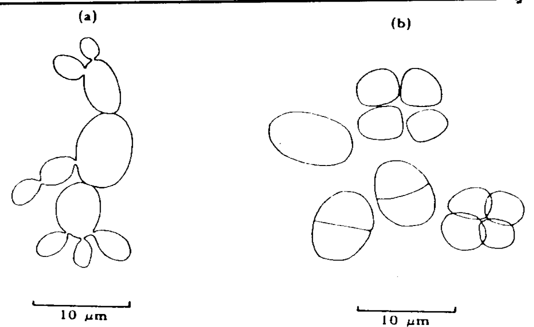


شكل (٨) : تركيب خلية الخميرة *Saccharomyces cerevesiae* .

ويتضاعف عدد أفراد عشيرة الخميرة المنقسمة مع الوقت، وخاصة أن الوقت اللازم للانقسام والتضاعف قصير نسبيًا، لايتجاوز عشرين دقيقة؛ وذلك عند الظروف المناسبة. وعلى الرغم من صغر حجم خلايا الخميرة، إلا أن كتلتها الحيوية **biomass** النهائية الناتجة عن الانقسام تكون هائلةً.

وفى الطريقة الثانية، تتبرعم خلايا الخميرة **budding** عند نقطةٍ من جدارها الخلوى. وتستمر الخلية المتبرعمة متصلةً بالخلية الأم، وعندما تصل الخلية البرعمية فى نموها إلى الحجم الحرج، فإنها تنفصل عن الخلية الأم، ثم تبدأ هى الأخرى فى التبرعم... وهكذا.

وقد تتبرعم خلية الخميرة من أكثر من نقطةٍ على سطح الخلية فى وقتٍ واحدٍ، وأيضاً.. قد تتبرعم الخلية البرعمية قبل انفصالها عن الخلية الأم؛ وبذلك تتكون كتل



شكل (٩) : طريقتان لانقسام خلايا الخميرة من الجنس *Saccharomyces* :
(a)– التبرعم.
(b) – الانقسام.

من سلاسل خلايا الخميرة المتبرعمة؛ يطلق عليها اسم «الميسليوم الكاذب **pseudo-mycelium**». ويؤدى ذلك إلى تضاعف قدرة الخميرة على التكاثر، وتكوين أفرادٍ جديدةٍ.

٣- الجدار الخلوي في الفطريات :

يتركب الجدار الخلوى للفطريات من معقداتٍ جلوكانيةٍ **glucan polymers**. ويتيمز هذا الجدار بالليونة عند القمة النامية للهيفا، أما بقية الجدار فهو صلب، غير مرنٍ، وغير قابل للتمدد؛ وهذا يجعل الهيفات قادرةً على اختراق البيئات الصلبة التى تنمو عليها.

ويحتوى الجدار الخلوى لهيفات معظم الفطريات على كميةٍ قليلةٍ من الشيتين **chitin**؛ وهو مركب معقد صلب، يتم تخليقه من مادة ن ـ خلات الجلوكوز أمين **N.acetylglucosamine** . وتعمل هذه المادة على صلابة الجدر الخلوية للهيفات الفطرية، إلا أن هيفات بعض الفطريات تخلو من الشيتين؛ كما فى الفطريات البيضية، وبعض الخمائر التابعة للفطريات الأسكية.

ولقد قسّم (1968) **Bartnicki-Garcia** الجدر الهيفية للفطريات من ناحية محتواها من السكريات المعقدة إلى ثمانى مجموعات؛ حيث وجد أن ذلك التقسيم ذو علاقةٍ إرتباطيةٍ بالمجاميع التقسيمية للفطريات.

شيتين
Chitin
Acetylglucosamine unit

سيليلوز
Cellulose
Glucose unit

شكل (١٠) : تركيب الشيتين Chitin والسيليلوز Cellulose يوضح طريقة ربط الوحدات الاساسية فيهما. تشير الاسهم إلي الأماكن التى تعمل فيها الإنزيمات لكسر السلسلة إلى وحدات أصغر.

فعلى سبيل المثال، وُجِدَ أن معظم الفطريات الراقية ذات الميسليوم المقسم تحتوى جدرها الخلوية على المعقد شيتين ـ جلوكان **chitin-glucan**، بينما تحتوى جدر هيفات فطرياتٍ أخرى على المعقد سيليلوز ـ جلوكان **cellulose-glucan**، والمعقد شيتين ـ شيتوسان **chitin-chitosan** ، والمعقد مانان ـ جلوكان **mannan- glucan** ـ (جدول ٢).

جدول (٢) : التركيب الكيميائى لجدر هيفات المجاميع الفطرية .
عن **(Bartnicki - Garcia, 1968)**

المجموعة التقسيمية		التركيب الكيميائى للجدار الخلوى
١ ـ الأكراسيوميسيتات	**Acrasiomycetes**	معقد من السيليلوز والجليكوجين cellulose - glycogen
٢ ـ الفطريات البيضية	**Oomycetes**	معقد من السيليلوز والجليكان cellulose - glycan
٣ـ الهيفوكيتريديوميسيتات	**Hyphochytridiomycetes**	معقد من السيليلوز والشيتين cellulose - chitin
٤ ـ الفطريات الزيجية	**Zygomycetes**	معقد من الشيتين والشيتوسان chitin - chitosan
٥ ـ الفطريات الكيتريدية الفطريات الأسكية الفطريات البازيدية الفطريات الناقصة	**Chytridiomycetes** **Ascomycotina** **Basidiomycotina** **Deuteromycotina**	معقد من الشيتين والجلوكان chitin - glucan
٦ ـ الفطريات الاسكية غير الحقيقية، وتشمل عائلات الخمائر	**Hemiascomycetes** **Saccharomycetaceae , Cryptoccocaccae**	معقد من المانان والجلوكان mannan - glucan
٧ ـ الفطريات البازيدية عائلة	**Basidiomycotina** **Sporobolomycetaceae**	معقد من المانان والشيتين mannan - chitin
٨ ـ الترايكوميسيتات	**Trichomycetes**	معقد من البولى جلاكتوز أمين والجلاكتان polygalactosamine - galactan

ويتركب الجدار الخلوى فى الفطريات البيضية التابعة للماستيجومايكوتات **Mastig-omycotina** ذات الهيفات غير المقسمة من السيليلوز؛ مثال ذلك: الفطر ***Phytoph-thora*** ؛ الذى تحتوى جدره الخلوية على حوالى ٩٠٪ جلوكان **glucan** من وزنها الجاف. ويعتقد أن ربع هذه الكمية عبارة عن سيليلوز (معقد من الجلوكوز المرتبط برابطة **ß-1,4**)، والباقى عبارة عن معقدٍ من سلاسل متفرعةٍ من الجلوكوز المرتبط بروابط **ß-1,3** و **ß-1,6** .

ومن المميزات الأخرى لجدر هيفات الفطريات البيضية وجود الحمض الأمينى هيدروكسى برولين **hydroxyproline**. ولايوجد هذا الحمض الأمينى فى الفطريات ذات الجدر الشيتينية، ولكنه يميز الجدر الخلوية للطحالب الخضراء والنباتات البذرية. ويعتقد أن هذا الحمض الأمينى يكوّن رابطةً هامةً بين السيليلوز وبروتينات الجدار الخلوى.

ومن ناحيةٍ أخرى، تتركب جدر هيفات الفطريات الزيجية من معقد الشيتين والشيتوسان **chitin-chitosan**؛ حيث يعتبر الشيتوسان معقداً شبيهاً بالشيتين، ولكنه خالٍ من حمض الخليك **non-acetylated chitin-like polymer**.

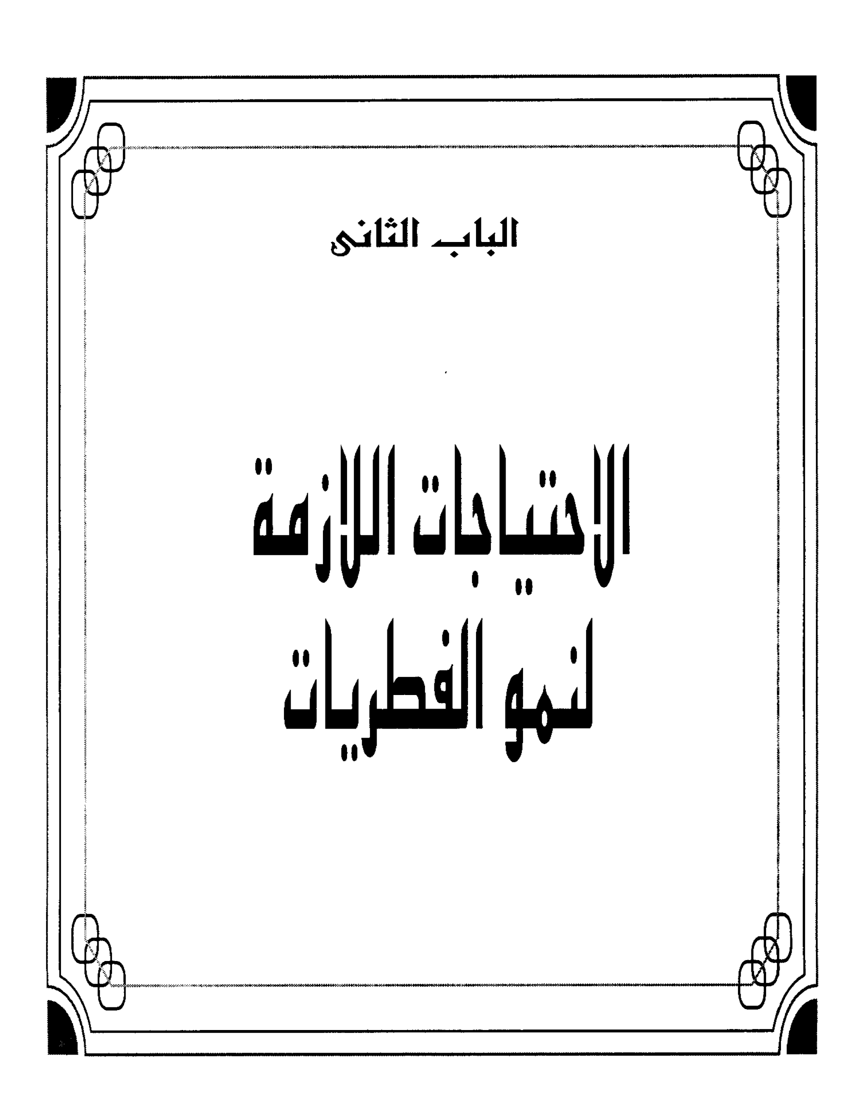
كما أن تركيب الجدار الخلوى لأى نوعٍ من الفطريات ليس متشابهاً تحت جميع الظروف، بل على العكس من ذلك؛ فالمركبات التى قد تكون موجودةً فى الهيفات الفطرية عند بداية تكوينها قد تختفى كليةً عندما تتقدم هذه الهيفات فى العمر.

وقد تترسب بعض المركبات الأخرى على الجدار الخلوى؛ لتخفى تحتها مركباتٍ أخرى سبق تكوينها؛ مما يجعل الكشف عن مثل هذه المركبات صعباً للغاية. وتلعب بعض العوامل الخارجية ــ مثل درجة الحرارة، ورقم الحموضة ــ دوراً هامًا فى تركيب الجدار الخلوى لمثل هذه الفطريات.

فعلى سبيل المثال، وُجِدَ معقد المانوز **mannose** فى الجدر الخلوية للفطريات

الشبيهة بالخمائر، بينما وُجدَ معقد المانان والجلوكان فى جدر الخمائر الحقيقية، والأطوار الشبيهةَ بالخمائر فِى بعض الفطريات الأخرى. ويوجد معقد المانان فى مثل هذه الفطريات خلال فترة تكوينها للخلايا المتبرعمة الشبيهة بالخميرة؛ حيث يعمل على مرونة خلاياها وسهولة تبرعمها.

ويتميز الجدار الخلوى لهيفات معظم الفطريات بتكوين متعدد الطبقات؛ حيث تظهر الطبقة الداخلية مكونةً من نسيجٍ محبوكٍ من أليافٍ دقيقةٍ **microfibrillar texture** ، بينما يبدو السطح الخارجى للجدار غير مميز التركيب.



الباب الثانى

الاحتياجات اللازمة لنمو الفطريات



الاحتياجات اللازمة لنمو الفطريات

يتأثر نمو الفطريات ـ شأنها فى ذلك شأن باقى الأحياء الأخرى ـ بالعوامل البيئية التى تحيط بها؛ حيث تؤثر مثل هذه العوامل الخارجية ليس فقط على معدل نموها، ولكن أيضاً فى حالاتٍ كثيرةٍ يمكن أن تـحدث تغيراتٍ فى طبيعة النمو ومحتوياتها الكيميائية.

ولقد أدى ذلك الاختلاف فى طبيعة نمو عديد من الفطريات إلى حيرة الباحثين والعاملين الأوائل فى مجال الفطريات؛ حيث وصفوا أنواعاً بل أجناساً لفطرياتٍ لم تكن سوى لنوع واحد، إلا أن نمواته تعرضت لظروف بيئية مختلفة أدت إلى تباين النمو؛ فظهرت هذه الاختلافات الفسيولوجية **physiological variants** لنفس نوع الفطر.

١ـ الاحتياجات الغذائية Food requirements :

يعتبر كل من الماء والأكسوجين عاملين فى غاية الأهمية لنمو الفطريات، علاوة على العناصر الغذائية الكبرى **macroelements** الواجب توافرها بكميةٍ كبيرةٍ نسبياً تكفى لسد الاحتياجات الغذائية للفطر؛ وهى: الكربون، والنيتروجين، والفوسفور، والكبريت والكالسيوم والبوتاسيوم، والماغنسيوم والحديد، بينما تعتبر عناصر الزنك والنحاس والمانجنيز والموليبدنم من العناصر الغذائية الصغرى **microelements** التى يحتاج إليها الفطر بكمياتٍ قليلةٍ لاتتجاوز عدة أجزاءٍ من المليون.

وفى بعض حالات نمو الفطر على بعض المواد الغذائية، فإنه يحتاج فى نموه إلى بعض العناصر الصغرى الإضافية **additional microelements**؛ مثل: الجاليوم والنيكل.

وحيث إن النباتات تحتاج ـ هى الأخرى ـ فى نموها إلى مثل هذه العناصر

الصغرى الأساسية **essential trace elements** ، فإن البيئات الغذائية التى يتم تجهيزها من أجزاءٍ نباتيةٍ بغرض إنماء الفطريات عليها تكون ـ غالباً ـ محتويةً على كل مايحتاج إليه النمو الفطرى من عناصر غذائيةٍ كبرى وصغرى.

وبعض هذه العناصر الصغرى التى يحتاج إليها الفطر فى نموه بكمياتٍ ضئيلة، تتم إضافتها عند تجهيز البيئة الغذائية باستعمال مواد كيماوية (أملاح) غير نقية، أو يتم استخلاصها ـ خلال عملية التعقيم ـ من زجاج القارورات المستخدمة فى تجهيز وتعقيم مثل هذه البيئات الغذائية.

وطبقاً لما سبق، فإنه يجب اتخاذ كافة الإجراءات اللازمة عند دراسة تأثير العناصر الغذائية الصغرى على نمو الفطريات؛ وذلك عن طريق استعمال أملاحٍ معدنيةٍ نقيةٍ وقاروراتٍ زجاجيةٍ من نوعٍ خاصٍ؛ فعلى سبيل المثال، وجد **Smith (1949)** فى أبحاثه الخاصة باستعمال كيماوياتٍ غير نقيةٍ وماءٍ مقطرٍ فى أجهزة زجاجية **glass`distilled water** أن عديداً من الأنواع التابعة للجنس ***Penicillium*** تنمو نمواً غير عادىٍ **ab-normal growth**، وأنه تجب إضافة كمياتٍ من الزنك والنحاس تتناسب مع كمية الحديد إلى بيئة زابكس، سواء السائلة، أم تلك المضاف إليها الآجار لحث الفطر على النمو الطبيعى، ولتكوين كونيديات الفطر بصورةٍ جيدةٍ.

وتستطيع معظم الفطريات المترممة **mould fungi** الاستفادة من المصادر غير العضوية لجميع العناصر الغذائية الأساسية **essential elements** عدا الكربون؛ لذا فإنه يجب أن يتوافر للفطر فى صورةٍ عضويةٍ. وهناك عدد قليل من الفطريات التى لاتستطيع الاستفادة من النيتروجين غير العضوى، بينما يمكن لبعض الفطريات الأخرى (مثل الفطر ***Rhizopus stolonifer***) النمو جيداً على بيئةٍ غذائية تحتوى على أملاح الأمونيوم **ammonium salts**، أو على مركبات الأمينو **amino compounds**، إلا أنه لايستطيع الاستفادة من النيتروجين إذا وجد فى البيئة الغذائية على صورة ملح نيتراتى.

وعلى الرغم مما سبق، فإن هناك أنواعاً متباينةً من المواد العضوية الطبيعية يمكن أن تنمو عليها أنواع عديدة من الفطريات المترممة بصورةٍ دائمة؛ وهذا يدل على أن هذه الفطريات يمكنها تحمل تركيزاتٍ متباينةٍ من العناصر الغذائية الأساسية، وأن مثل هذه الفطريات يمكنها الاستفادة من الكربون والنيتروجين الذى يوجد فى الطبيعة مرتبطاً بعديدٍ من الصور المختلفة للمواد العضوية.

ولقد وجد الباحثان **Gupta & Nandi (1957)** أن إحدى سلالات الفطر ***Penicil-lium vermiculatum*** أمكنها أنتاج أجسامٍ ثمريةٍ أسكيةٍ دورقية الشكل **perithecia** عند إنمائها على بيئةٍ غذائيةٍ تحتوى على نسبةٍ كافيةٍ من النتروجين تتراوح بين ٠,٠٥٪ و ١,٠٪ من ملح نترات الصوديوم.

وبالإضافة إلى العناصر الغذائية الأساسية **essential elements**، يمكن للفطريات الاستفادة من ـ أو على الأقل امتصاص ـ بعض العناصر الأخرى التى لايؤثر وجودها أو غيابها على نمو هذه الفطريات؛ فعلى سبيل المثال، وجدَ عند تحليل رماد الفطر ***Aspergillus niger*** مادة سليكات البوتاسيوم، وهى مادة ليست أساسيةً لنمو الفطر، ولكن ميسليوم الفطر امتصها من البيئة التى ينمو عليها برغم عدم أهميتها.

وكذلك الحال فى الكلور **chlorine**؛ فهو غير ضرورى لنمو الفطر، ولكنه عادةً مايضاف إلى بيئة نمو الفطريات على صورة ملح كلوريد البوتاسيوم؛ كما هى الحال عند تجهيز بيئة **Czapek-Dox solution**؛ وذلك كمصدرٍ هامٍ لعنصر البوتاسيوم، إلا أن هناك بعض الفطريات ـ على الرغم من ذلك ـ تستفيد من الكلور الموجود فى مثل هذه البيئات الغذائية، وتكوّن منه مركباتٍ عضويةً معقدةً.

فعلى سبيل المثال، وجد الباحثان **Raistrick & Smith (1936)** أن هناك سلالةً واحدةً من الفطر ***Aspergillus terreus*** يمكنها الاستفادة من أكثر من ٩٥٪ من الكلور الموجود فى محلول بيئة **Czapek-Dox** ، ووجد أن معظم هذا الكلور موجود فى مركبين الأول هو (جيودين **geodin**: $C_{17}H_{12}O_7Cl_2$) . والثانى هو (إردين **erdin** : $C_{16}H_{10}O_7Cl_2$).

وفى هذا المجال نشر **Clutterbuck et al. (1940)** حصراً لعددٍ كبيرٍ من أنواع الفطريات التى يمكنها تمثيل الكلور تمثيلاً غذائياً؛ حيث أوضح هؤلاء الباحثين أن معظم أنواع هذه الفطريات المختبرة يمكنها الاستفادة من الكلور بدرجةٍ محدودةٍ، بينما قليل من هذه الفطريات استطاع تمثيل أكثر من ٢٥٪ من الكلور الكلى الموجود فى البيئة. وفى هذه الدراسة وجد الباحثون أن الفطر ***Caldoriomyces fumago*** يمكنه الاستفادة من حوالى ٩٥٪ من إجمالى كمية الكلور الموجودة فى البيئة؛ منتجاً مركباً معقداً هو كالداريوميسين **caldariomycin** ($C_5 H_8 O_2 Cl_2$).

وبالإضافة إلى ماسبق، فهناك مركبات عضوية معقدة أخرى تحتوى على الكلور، ويتم تكوينها بواسطة بعض الفطريات المترممة؛ مثال ذلك مركب جريسيو فلفين **griseofulvin** ($C_{17} H_{17} O_6 Cl$) ؛ وهو يعتبر أحد نواتج التمثيل الغذائى الثانوى للفطر ***Penicillium griseofulvum*** **(Grove, 1964)** ومادة سكليوتيورين-**sclerotior-in** ($C_{21} H_{22} O_5 Cl$) ويكونه الفطر ***P.sclerotiorum*** والفطر ***P.multicolor*** كأحد نواتج التمثيل الغذابى الثانوى **(Birkinshaw, 1952)**.

وهناك بعض الفطريات الأخرى التى تحتاج فى نموها ـ بالإضافة إلى ماسبق ذكره من عناصر غذائية ـ إلى كمياتٍ بسيطةٍ من المركبات العضوية المعقدة؛ بعضها عبارة عن فيتامينات **Vitamins**؛ والتى ترجع أهميتها إلى تأثيرها المباشر على النمو، ولكن بطريقةٍ لايمكن مقارنتها بالعناصر الغذائية التى سبقت الإشارة إليها.

ويمكن لعديدٍ من الفطريات المترممة النمو جيّدًا على بيئاتٍ غذائيةٍ صناعيةٍ **syn-thetic media**، يتم تجهيزها باستعمال الجلوكوز والأملاح النقية، دون الحاجة إلى إضافة مواد مكملةٍ مشجعةٍ للنمو. ومع ذلك.. فلا يمكن القول إن نمو مثل هذه الفطريات السابقة لايحتاج إلى مثل هذه المواد؛ فلقد وجد أن هذه الفطريات يمكنها أن تخلق بنفسها ماتحتاج إليه من المواد المشجعة للنمو دون الحاجة إلى إمدادٍ خارجيٍّ منها؛ بينما هناك فطريات أخرى (مثل الفطريات ***Penicillium digitatum*** و ***Sordar-***

ia fumicola وغيرها من الفطريات الأسكية) تنمو نمواً ضعيفاً، وربما لاتنمو على الإطلاق على بيئة آجار زابك **Czapek agar**، بينما تنمو جيداً على بيئة آجار المولت **malt agar**، أو أية بيئةٍ طبيعيةٍ أخرى.

ووجد - أيضاً - أن بعض الفطريات الأسكية تنمو هيفاتها نمواً جيداً على البيئات الصناعية؛ مكونةً أجساماً ثمريةً دورقيةً **perithecia** ، إلا أنها تكون عقيمةً، خاليةً من الأكياس والجراثيم الأسكية. ولكن عند إضافة مواد إضافيةٍ مشجعةٍ للنمو إلى مثل هذه البيئات الصناعية، تكونت أجسام ثمرية خصبة تحتوى على الأكياس والجراثيم الأسكية.

ويعتبر الفطر *Phycomyces blakesleeanus* أول الفطريات التى اكتشف فيها مدى احتياجها إلى الفيتامينات كمواد مشجعة لنموها؛ حيث وجد أنه يحتاج إلى الثيامين **thiamin** (أنيورين **aneurin** وفيتامين **B1**). ومنذ ذلك الحين، عرف أن معظم الفطريات التى تحتاج إلى إمدادٍ خارجي للمواد المشجعة للنمو تحتاج - فى الحقيقة - إلى الثيامين، سواء فى صورته النهائية، أم كمركباتٍ أوليةٍ يستعملها الفطر فى تخليق هذا الفيتامين.

فعلى سبيل المثال ، وجد أن الفطر *P.blakesleeanus* يمكنه تخليق الثيامين إذا توافر فى البيئة التى ينمو فيها مركبات البيريمدين **pyrimidine** والثيازول **thiazole**، بينما تحتاج فطريات أخرى إلى أحد المركبين السابقين فقط، حيث إنها تستطيع تخليق المركب الآخر خلال دورة تمثيلها الغذائى.

وتحتاج بعض الفطريات إلى البيوتين **Biotin** (فيتامين **H**) ، وقليل منها يحتاج إلى البيريدوكسين **pyridoxine** (فيتامين B6). ونادراً ما تحتاج الفطريات إلى الإينوسيتول **inositol**، والريبوفلافين **riboflavin**، وبارا أمينو حمض البنزويك **p.aminobenzoic acid** والتى تحتاج إليها الفطريات - عادة - بكمية ضئيلةٍ لاتتعدى أجزاء من المليون، وذلك للتخليق الحيوى لحمض الفوليك .

ولقد أدى التعرف على مدى احتياج بعض الفطريات للفيتامينات المختلفة إلى استخدامها فى التجارب الحيوية؛ التعرف على وجود مثل هذه الفيتامينات أو غيابها؛ حتى فى التركيزات الشديدة الانخفاض. ويعتبر استخدام الفطريات فى مثل هذه الاختبارات أقل تكلفةً بكثيرٍ وأكثر سرعةً من التجارب التى تستخدم فيها حيوانات التجارب.

فعلى سبيل المثال، يستخدم الفطر ***Phycomyces blakesleeanus*** لتقدير ڤيتامين الثيامين، ويستخدم الفطر الشبيه بالخميرة ***Nematospora gossypii*** لتقدير البيوتين والإينوسيتول **inositol**، بينما يمكن استخدام بعض سلالات الفطر ***Neurospora sitophila*** والفطر ***N.crassa*** فى تقدير عديدٍ من الفيتامينات والأحماض الأمينية. ولكن لم يكتشف - حتى الآن - أحد الفطريات التى تحتاج فى نموها إلى الريبوفلافين (فيتامين **B2**)؛ ومن ثم لايمكن استخدام الفطريات فى الكشف عن هذا الفيتامين، إلا أنه يمكن استخدام الأنواع التابعة لبكتيريا من الجنس ***Lactobacillus*** فى ذلك الغرض.

٢ - التهوية :

تحتاج معظم الفطريات إلى الأكسوجين عند نموها، بينما يمكن لعديدٍ من فطريات الخميرة النمو عند غمرها تماماً فى البيئة السائلة؛ حيث تكون كمية الأكسوجين المتاحة للتنفس محدودةً، ولكن خلال تخمر السكر تحت هذه الظروف تتكون بعض خلايا الفطر، إلا أنها تكون قليلةً بالمقارنة بالخلايا المتكونة تحت الظروف الهوائية.

وتنتج بعض الفطريات الأخرى تراكيب فطرية معينةً قد تتشابه مع خلايا الخميرة، أو تكون تراكيب لزجةً؛ وذلك عند نموها مغمورةً فى البيئة السائلة، إلا أنه فى جميع هذه الحالات يكون نمو الفطر بطيئاً، ويتوقف على كمية الأكسوجين الذائبة فى محلول بيئة النمو.

وتنبت جراثيم عديدٍ من الفطريات الهيفية **filamentous fungi** ؛ وذلك عندما

تغمر فى محلول البيئة الغذائية ، إلا أنه عندما تنمو هيفات الفطر، فإنها تنمو ببطءٍ شديدٍ حتى تصل بعض الهيفات النامية إلى سطح البيئة السائلة؛ حيث تجد ما تحتاج إليه من أكسوجين، عندئذٍ تنمو هذه الهيفات بسرعةٍ وتطفوا على سطح البيئة، حتى يغطى النمو الفطرى هذا السطح.

وينتج عن التمثيل الغذائى الطبيعى للفطريات هدم لبعض المواد الغذائية العضوية إلى ثانى أكسيد الكربون، فإذا لم تتم إزالة هذا الغاز بصفةٍ دوريةٍ وإحلال هواءٍ نقيٍ – محمل بالأكسوجين – بدلاً منه، يتوقف نمو الفطر.

ويتم إنماء الفطريات المترممة – عادةً – على بيئاتٍ غذائيةٍ سائلةٍ داخل أنابيب اختبارٍ زجاجية طول الأنبوبة منها ١٥ سنتيمتراً، يتم إغلاقها بسداداتٍ قطنيةٍ؛ حيث يبلغ عمق البيئة السائلة فى الأنبوبة حوالى ثلاثة سنتيمتراتٍ. وتحضن هذه الأنابيب فى وضعٍ عموديٍ؛ حيث يتراكم غاز ثانى أكسيد الكربون فوق سطح البيئة السائلة.

وفى حالة إنماء الفطر فى بيئةٍ غذائيةٍ سائلةٍ داخل دورقٍ زجاجيٍ، أو على بيئة الآجار المائل **sloped agar** داخل أنابيب اختبارٍ، فإن مسطح البيئة يزداد بالنسبة إلى الفوهة المغلقة بالسدادة القطنية؛ مما يجعل الظروف الداخلية أكثر سوءاً. ومع ذلك فإن تحليل الهواء الداخلى لمثل هذه الأوعية المغلقة التى ينمو فيها فطر ما أوضح أن هناك اختلافاتٍ محدودةً بالمقارنة بالهواء النقى العادى؛ وهذا يعنى أن هناك آليةً معينةً تتم خلالها إزالة سريعة لغاز ثانى أكسيد الكربون المتكون، ودخول هواءٍ نقيٍّ بدلاً منه.

وفى الدراسات العديدة التى أجريت عند إنماء الفطريات – على بيئاتٍ غذائيةٍ داخل أوعيةٍ زجاجيةٍ مغلقةٍ بسداداتٍ غير منفذةٍ للهواء – وجد أن ذلك أدى إلى نقص إمداد المزرعة النامية بما يكفيها من الأكسوجين، ولقد أدى ذلك ليس فقط إلى تقليل معدل نمو الفطر، ولكن أيضاً إلى تغيير نوع هذا النمو. وفى بعض الحالات أدت قلة التهوية إلى منع تلون ميسليوم الفطر وجراثيمه باللون الطبيعى.

ولاتستطيع الفطريات تمثيل غاز ثانى أكسيد الكربون تمثيلاً ضوئياً **photosynthesis**

ولكنها تنتجه عن طريق التنفس. ولقد وجد أن بعض الفطريات يمكنها إعادة امتصاص غاز ثانى أكسيد الكربون ، ثم تستخدمه فى بناء بعض المركبات العضوية المحتوية على أربع ذرات كربونٍ أو أكثر؛ وذلك من مركباتٍ تحتوى على ثلاث ذرات كربونٍ ناتجةٍ من تحلل الجلوكوز؛ حيث أثبتت الدراسات التى استخدم فيها الكربون المشع أن بعض النواتج الحمضية الناتجة من التمثيل الغذائى للفطريات **acidic metabolic products** ــ مثل حمض الستريك ــ تتكون بهذه الطريقة.

٣- رقم الحموضة :

تتحمل معظم الفطريات المترممة مدى واسعاً من تركيز أيون الهيدروجين، بينما تفضل بعض هذه الفطريات تركيزاتٍ معينةً؛ فإذا تغيرت هذه التركيزات أدى ذلك إلى تغيرٍ فى طبيعة نمو الفطر. ولقد أظهرت نتائج عديدٍ من الدراسات أن رقم الحموضة يؤثر تأثيراً مباشراً على نشاط الإنزيمات الخارجيةً وعلى التمثيل الغذائى للفطر.

وبصفةٍ عامةٍ، تناسب البيئة المائلة للحموضة إنبات الجراثيم، بل وتشجعها على الإنبات وعلى النمو خلال المراحل الأولى لتكوين مستعمرةٍ فطريةٍ حديثةٍ، بينما يناسب الوسط المائل للقلوية نمو معظم أنواع البكتيريا.

وعندما يستكمل الفطر نموه ــ مكوناً مستعمرةً فطريةً ــ يتغير تأثره بتركيز أيون الهيدروجين؛ حيث يرجع ذلك إلى تراكم نواتج التمثيل الغذائى فى بيئة النمو. وهناك عديد من الأنواع التابعة للفطرين ***Aspergillus*** و ***Penicillium*** تكوّن كمياتٍ هائلةً من الأحماض العضوية؛ مثل: الأوكساليك **oxalic** ، والستريك**citric**، والجلوكونيك **gluconic** بنسبٍ متفاوتةٍ.

وفى حالاتٍ أخرى لاتنتج بعض الفطريات خلال تمثيلها الغذائى نواتج ذات طبيعةٍ حامضيةٍ تعمل على تغيير رقم حموضة البيئة التى تنمو فيها؛ ومن ثم يستمر رقم حموضة البيئة متوقفاً على نوع الأملاح غير العضوية المستخدمة فى تجهيزها؛ فعلى سبيل المثال، فإن استهلاك الفطر للنيتروجين الموجود فى أملاح نترات الصوديوم أو

البوتاسيوم يؤدى إلى تحرر أيونات الصوديوم أو البوتاسيوم ذات التأثير القاعدى؛ مما يسبب ارتفاع رقم حموضة البيئة، بينما يؤدى استهلاك النيتروجين من ملح كبريتات الأمونيوم إلى تحرر أيون الكبريتات الحامضى؛ فينخفض رقم الحموضة.

وفى وجود كميةٍ كافيةٍ من الأملاح المنظمة لرقم الحموضة **buffer salts** ، فإن رقم حموضة البيئة يميل إلى الثبات فى مثل الحالات التى سبقت الإشارة إليها، أو ـ على الأقل ـ تكون التغيرات الناتجة فى رقم الحموضة محدودة. كما أن بعض الفطريات تقوم بإفراز كمياتٍ قليلةٍ من الأحماض العضوية خلال المراحل المبكرة من نموها على البيئة الغذائية، ثم تقوم باستهلاكها بعد ذلك كأحد مصادر الكربون. وفى مثل هذه الحالات ينخفض رقم الحموضة فى بداية نمو الفطر على البيئة، ثم يزداد هذا الرقم مع زيادة نموه.

وفى بعض الحالات، يدل مظهر النمو الفطرى على التغيرات التى تحدث فى بيئة النمو؛ ففى بعض الأنواع الخضراء اللون من الجنسين ***Aspergillus*** و ***Penicillium*** يظل ذلك اللون الأخضر المميز للمستعمرات الحديثة باقيًا لشهور طويلة عند نمو الفطر على بيئة حمضيةٍ تحتوى على مادةٍ منظمةٍ للنمو **buffered acid medium** ؛ مثل بيئة منقوع المولت **beer wort** .

ومع ذلك، فعند نمو مثل هذه الفطريات على بيئة زابكس ـ التى تميل إلى القلوية ـ فإن إنتاج الفطر للأحماض العضوية يغير من رقم حموضة البيئة إلى المتعادل، ثم تميل إلى الحموضة بعد ذلك، ويصاحب ذلك تغير تدريجى فى اللون الأخضر للكونيديات المتكونة إلى لونٍ بنيٍّ ذى ظلالٍ رماديةٍ.

وتنتج بعض الفطريات صبغاتٍ داكنة اللون **mould pigments** ، سواء داخل ميسليوم الفطر أم خارجه، وقد تفرز مثل هذه الصبغات فى البيئة الغذائية التى ينمو فيها الفطر. وتعمل هذه الصبغات كمؤشرٍ يوضح ارتباط التغيرات الناتجة فى لون مثل

هذه الصبغات الفطرية وعلاقتها بالتغير فى رقم حموضة البيئة التى ينمو فيها ذلك الفطر.

٤ـ الضوء :

من الصعب وضع تصور عام يوضح تأثير الضوء على نمو الفطريات؛ فهناك بعض الأنواع الفطرية التى تنمو بصورةٍ جيدةٍ؛ سواء فى الضوء أم الظلام، دون أن يؤثر ذلك فى معدل نموها أو طبيعته، بينما هناك أنواع أخرى من الفطريات يتأثر نموها كماً ونوعاً بالضوء.

فعلى سبيل المثال، بعض الفطريات الزيجية التابعة للعائلة **Mucoraceae** لاتبدى تأثراً ما بالإضاءة المتوسطة، بينما بعض سلالات فطر العفن العادى ***Rhizopus stolonifer*** تنمو فى الضوء المنتشر بدرجةٍ أسرع منها فى الظلام.

كما أن بعض الفطريات ذات قدرةٍ موجبةٍ على الانتحاء الضوئى **positively photo-tropic**؛ وهذا يعنى اتجاه نموها نحو مصدر الضوء، أو أنها تقوم بتوجيه أجسامها الثمرية التى تكونها بحيث تواجه أكثر الأماكن استضاءةً. ومن أمثلة هذه الفطريات فطر ***Phycomyces blakesleeanus***؛ الذى يكوّن حوامل أسبورانجيةً قصيرةً نسبياً عندما تتعرض المستعمرة الفطرية للضوء، بينما تستطيل هذه الحوامل الأسبورانجية، وتصل إلى حوالى ٢٠ ـ ٣٠ سنتيمتراً إذا نما الفطر على طبقةٍ من البيئة الغذائية موضوعةً فى قاع وعاءٍ عميقٍ؛ بحيث يسمح بدخول الضوء من قمته فقط.

وهناك عديد من الأنواع الفطرية الأخرى التى تُظْهر مثل هذا السلوك؛ مثال ذلك: الأنواع التابعة للجنس ***Pilobolus***؛ الذى يقذف أكياسه الأسبورانجية ـ عند نضجها ـ بقوةٍ فى اتجاه مصدر الضوء. وفى فطرياتٍ أخرى ـ مثل فطر عيش الغراب المحلل للخشب ***Lentinus lepideus*** ـ تنمو سيقان أجسامها الثمرية ناحية الضوء، بينما يتم تكوين القبعة فقط عندما تزيد الإضاءة عن حدّ معينٍ.

وفى بعض الفطريات المكونة للأجسام الثمرية الأسكية الدورقية **perithecia** التابعة

لرتبة البيرينوميسيتات **Pyrenomycetes** ـ خاصة تلك الأنواع التى تنمو على روث الحيوانات العشبية ـ توجه أعناقها ناحية أقصى مصدرٍ للإضاءة. وفى مثل هذه الحالات يمثل الانتحاء الضوئى نوعاً من التأقلم مع الظروف البيئية التى ينمو فيها الفطر؛ ليحقق أكبر قدرةٍ ممكنةٍ على نثر جراثيمه.

وفى دراسةٍ قام بها الباحث **Williams (1959)** وصف خلالها تأثير الضوء على حجم الجراثيم المتكونة؛ لاحظ أن جراثيم أنواع الفطريات المختبرة التى تكونت تحت ظروف الظلام كانت أكبر حجماً من تلك المتكونة تحت ظروف الإضاءة المستمرة.

كما أوضحت دراسات أخرى أن الضوء يعمل على حث الفطر على تكوين مزيدٍ من الجراثيم أو الأجسام الثمرية.. ويؤدى تعرض النمو الفطرى إلى ضوء الشمس فترةً قصيرةً، أو للأشعة فوق البنفسجية **ultraviolet rays** إلى زيادة تكوين الجراثيم فى المزارع الفطرية؛ إلا أنه عندما يزداد تعرض الفطر للأشعة فوق البنفسجية فترةً أطول، يموت ميسليوم الفطر، وكذلك تموت الجراثيم. ولقد لوحظ أن الجراثيم داكنة اللون، تكون أكثر مقاومةً لهذا التأثير الضار الناتج من تلك الأشعة؛ بالمقارنة بالجراثيم الفاتحة اللون أو العديمة اللون (الشفافة).

ولقد وجد أن تعرض النموات الفطرية لجرعاتٍ معتدلةٍ من الأشعة فوق البنفسجية ـ لاتكفى لقتلها ـ يؤدى إلى زيادة معدل التطفر فى الجراثيم المحتفظة بحيويتها. وتستعمل هذه الطريقة ـ عادة ـ للحصول على سلالاتٍ فطريةٍ جديدةٍ ذات صفات كيموحيويةٍ مرغوبةٍ.

٥- درجة الحرارة :

تظهر الفطريات اختلافاتٍ كبيرةً فى مدى تأثرها بتغير درجات الحرارة، ومدى تحملها للحرارة العالية وللبرودة. وعادةً ماتستخدم الحرارة المرتفعة فى تعقيم البيئات الغذائية والأوعية الزجاجية والأدوات المعملية، وكذلك للتخلص من النموات الفطرية غير المرغوبة والتلوثات الميكروبية.

وتختلف الفطريات فيما بينها فى حساسيتها للحرارة المرتفعة، فعلى سبيل المثال.. تموت بعض سلالات الفطر ***Penicillium brevi-compactum*** إذا زادت فترة تعرضها لحرارة ٣٣°م، بينما يبقى الفطر***Byssochlamys fulva*** ـ وهو الفطر المسبب لكثير من مشاكل تلوث المعلبات الغذائية ـ محتفظاً بحيويته، برغم مراحل التعقيم العادية التى تمر بها المواد الغذائية المعلبة، والتى تتعرض خلالها لدرجة حرارة أعلى من ٩٠°م؛ لفترة زمنية قصيرة.

وكذلك الحال فى الجراثيم الأسكية للفطر المسبب للعفن الأحمر فى الخبز ***Neurospora sitophila*** ؛ والذى يمكنه الاحتفاظ بحيويته داخل رغيف الخبز؛ خلال خبزه داخل الفرن، والذى يتميز بأن جراثيمه الأسكية لايمكنها الإنبات إلا إذا تعرضت لدرجة حرارة ٦٠°م على الأقل؛ أى إن أرتفاع الحرارة يشجع تلك الجراثيم على الإنبات.

وبصفة عامة، نلاحظ أن جراثيم الفطريات أكثر تحملاً للحرارة من الميسليوم، وكلاهما يتأثر أكثر بالحرارة الرطبة **moist heat**؛ بالمقارنة بالحرارة الجافة. كما أن جراثيم بعض الفطريات تموت إذا تعرضت للتجمد فى وجود الماء، ولكن عند تجفيفها وهى على حالة مجمدة (تجفيد)، فإنها تستمر فى الاحتفاظ بحيويتها لفترات طويلة.

وتستطيع جراثيم بعض الفطريات الإنبات، بل وتنمو هيفاتها تحت درجات حرارة بالغة الانخفاض، كما فى جراثيم الأنواع التابعة للفطر ***Cladosporium*** والفطر ***Sporotrichum*** التى تنبت وتنمو هيفاتها على اللحم المتجمد المخزن فى درجات حرارة تقل عن درجة التجمد **(Cochrane, 1958)**

وأيضاً يمكن للخميرة المحبة لارتفاع الآسموزية **osmophilic yeasts** النمو فى عصير البرتقال المركز المحفوظ فى درجة حرارة تقل عن عشر درجات تحت الصفر **(Ingram, 1951)**، وكذلك وجد أن الخميرة القرنفلية اللون **pink yeast** المعزولة من المحار المجمد **frozen oysters** يمكنها النمو على درجات حرارة تقل عن ١٨°م تحت الصفر**(Mc Cormack, 1950)** .

ومن جهة أخرى، يمكن لبعض الفطريات تحمل درجات الحرارة العالية، بل وبعضها ينمو جيداً إذا تعرض لها، فى الوقت الذى تموت فيه أنواع أخرى من الفطريات؛ فعلى سبيل المثال ينمو الفطر ***Aspergillus fumigatus*** نمواً جيداً على حرارة ٥٠°م، بينما يمكن للفطر ***Chaetomium thermophile*** النمو حتى ٦٢°م، فى حين تتراوح درجة الحرارة المثلى لنموه بين ٤٠° و ٥٠°م.

ولقد وصف الباحثان **Cooney & Emerson (1964)** مايمكن أن يطلق عليه اسم «الفطريات المحبة للحرارة العالية **thermophilic fungi**». ويقتصر استخدام هذا المصطلح على الفطريات التى يمكنها النمو على حرارة ٥٠°م أو أعلى، بينما لايمكنها النمو على حرارة ٢٠°م أو أقل؛ فإذا ما استطاعت النمو على ٢٠°م أو أقل، أطلق عليها اسم «الفطريات المتحملة للحرارة العالية **thermotolerant fungi**»؛ مثال ذلك الفطر ***Aspergillus fumigatus*** .

ولكل نوع فطرىّ درجة حرارة مثلى **optimum temperature** لنموه، تختلف من نوع لآخر؛ فعلى سبيل المثال تنمو الأنواع التابعة للجنس ***Penicillium*** فى المناطق المعتدلة؛ حيث تتراوح درجة الحرارة المثلى لها بين ٢٠°م و ٢٥°م، بينما تنمو الأنواع التابعة للجنس ***Aspergillus*** أفضل عند حوالى ٣٠°م؛ لذا فهى تنتشر أكثر فى المناطق الدافئة.

ويعتبر ماسبق ذكره تعميماً له شواذُه؛ حيث إن حوالى ٩٠٪ من الفطريات الهيفية المستخدمة فى الصناعة تنتمى أنواعها إلى الجنسين السابقين (***Aspergillus*** **،** ***Penicillium***)، كما أن بعض الأنواع التابعة للجنس ***Aspergillus*** ـ مثل الفطر ***A.glaucus*** ـ لها درجتا حرارة مُثْلَيان، الأولى عند ١٠°م حيث أفضل نمو هيفى وتكوين كونيديات، والثانية عند ٣٠°م حيث أفضل إنتاج للأجسام الثمرية الدورقية **perithecia** للطور الكامل.

ويمكن وجود مثل هذه الحالات الشاذة فى كثير من الفطريات الأخرى؛ مثال ذلك بعض الأنواع القليلة التابعة للعائلة **Mucoraceae** التى تتميز بارتفاع درجة حرارتها المثلى؛ كما هى الحال فى الفطرين « ***Absidia corymbifera*** و ***A. ramosa*** المتطفلين على الحيوانات ذات الدم الحار؛ حيث يصل النمو الفطرى إلى أفضل حالاته عند حرارة ٣٧°م.

وفى حالات أخرى، تنمو بعض الفطريات الزيجية فى مدى واسع من درجات الحرارة؛ مثال ذلك الفطر ***Thamindium elegans*** ؛ حيث تتراوح درجة الحرارة المثلى لنمو هيفاته بين٢٥°م و ٢٧°م. وعلى الرغم من ذلك فإنه يحتاج إلى درجة حرارة منخفضة تصل إلى ٦°م ـ ٧°م؛ لكى يمكنه التكاثر جنسيا وتكوين جراثيم زيجية.

٦ ـ احتياجات الرطوبة:

تنمو بعض الفطريات نموا جيداً عند رطوبةٍ نسبيةٍ أعلى من ٩٥٪ . وبصفةٍ عامةٍ.. يمكن مشاهدة كثير من الفطريات النامية على المواد العضوية فى الطبيعة ما دامت الرطوبة النسبية عاليةً. ويكفى ارتفاع رطوبة الجو لكى تنمو الهيفات الفطرية على سطح المواد العضوية الجافة، دون أن تتخلل هذه الهيفات المادة العضوية إلا إلى سنتيمتراتٍ قليلة.

ويمكن لبعض الفطريات ـ خاصة تلك الأنواع المصاحبة للمواد المخزونة ـ مثل الأنواع التابعة لمجموعة ***Aspergillus glaucus*** ـ النمو تحت ظروف الرطوبة النسبية المنخفضة، بينما هناك فطريات أخرى، تعرف باسم الفطريات المحبة للجفاف **xerophiles** يمكنها النمو فى نسبة رطوبة منخفضة إلى حدٍّ ما تتراوح بين ٦٥٪ و ٧٥٪.

كما تعمل زيادة الضغط الآسموزى **osmotic perssure** للمحاليل الغذائية التى تنمو فيها الأحياء الدقيقة على تثبيط نموها؛ وهذا يشمل الفطريات بطبيعة الحال.

إلا أن هناك بعض الفطريات التى يمكنها تحمل الضغوط الآسموزية العالية؛ وهى

تعرف باسم «الفطريات المحبة لارتفاع الأسموزية osmophiles »؛ فإذا كانت مثل هذه الفطريات متخصصة فى تحمل التركيزات العالية من ملح كلوريد الصوديوم، أطلق عليها اسم الفطريات المحبة للملوحة halophiles.

وبالإضافة إلى ما سبق، توجد مجموعة أخرى من الفطريات، تمثل معظمها أنواعًا ممرضة للنبات، تحتاج فى نموها إلى وجود بعض الماء الحر لإنبات جراثيمها . ولقد وجد أن بعضاً من هذه الفطريات تستكمل دورة حياتها فى الماء، والبعض الآخر يحلل الخشب المغمور فى الماء ويتجرثم عليه، وخاصة كتل الخشب المغمورة على شواطىء البحار.

٧ - طبيعة النمو الفطرى :

حيث إن الفطريات غير ذاتية التغذية **heterotrophs**، فإنها قادرة على النمو فى مدى واسع من البيئات؛ حيثما تتوافر مصادر كربونية عضوية صالحة للتغذية عليها. ومن هذه الفطريات أنواع يمكنها النمو على المركبات الكربونية الناتجة من تحلل الحيوانات الميتة، وكذلك النباتات الميتة. كما تنمو الفطريات متطفلة أو متبادلة المنفعة مع غيرها من الأحياء؛ ومثال ذلك الميكوريزا مع جذور الأشجار والأشنيات مع الطحالب.

وتتميز الفطريات بتكوينها لنظامٍ هيفيٍّ **hyphal system** ، قادرٍ على اختراق المواد التى تنمو عليها هذه الفطريات. كما يجب أن تتوافر العناصر الغذائية للفطريات بصورةٍ ذائبةٍ؛ حتى يمكنها امتصاصها عن طريق هيفاتها. وفى بعض الحالات يمكن لهذه الهيفات إذابة المواد الصلبة عن طريق إفراز الإنزيمات الخارجية-**extracellular en-zymes** والتغذية ـ بعد ذلك ـ على نواتج التحلل الإنزيمى. ويؤدى هذا النشاط الفطرى إلى زيادة قدرة الفطريات على النمو وتحليل المركبات العضوية المعقدة؛ سواء أكان مصدرها نباتيا أم حيوانيا.

وحتى الآن لم يحظ التوزيع الجغرافى للفطريات ـ خاصة الفطريات الصغيرة

الحجم **microfungi** ـ بالاهتمام اللائق، بالمقارنة بالفطريات الكبيرة الحجم **macro fungi** ذات الثمار الكبيرة؛ مثل فطريات عيش الغراب؛ سواء المأكولة أم غير المأكولة **mushrooms & toadstools**، إلا أن هناك مواطن خاصة **specific habitats** تتوافر فيها ظروف مناسبة لانتشار الفطريات؛ مثل المناطق الاستوائية، والمعتدلة.

وهناك مجموعة من الظروف البيئية المحددة لنمو الفطريات وانتشارها، وعلى رأسها توافر الماء والمركبات العضوية ودرجة الحرارة ورقم حموضة الوسط. وعلى الرغم من تباين احتياجات الأنواع المختلفة من الفطريات غير الذاتية التغذية للنمو والتكاثر فى بيئة ما، فإن هذه الاحتياجات تعد قليلة نسبيا، ويمكن توافرها فى أماكن كثيرة من العالم، سواء على اليابسة، أم فى الوسط المائى.

وليس من العجيب أن نجد فطرياتٍ ناميةً على خشب الأثاث المعامل بالطلاء، أو حتى على الأسوار الحديدية؛ وفى مثل هذه الحالات، فإن ما يتوافر لتغذية الفطر قليل للغاية. وكذلك الحال عند عزل الفطريات فى المعمل، فإننا نستخدم ـ عادةً ـ بيئة الآجار المائى **plain - agar** التى تتركب من ماء الصنبور والآجار. وحيث إن معظم الفطريات لا يمكنها تحليل الآجار والاستفادة منه غذائيا كمصدرٍ للكربون، فإن المتاح فى هذه البيئة لتغذية الفطريات ضئيل.

ومن النادر أن تنمو مستعمرة فطرية فى الطبيعة على مادةٍ ما بصورةٍ نقيةٍ، ولكن من المألوف مشاهدة نمواتٍ متداخلةٍ لأحياءٍ دقيقة، قد يكون بعضها نشيطاً، والبعض الآخر فى حالة سكون؛ وعلى ذلك فإن مثل هذه البيئة ـ التى تنمو فيها مجموعة من الأحياء تؤثر فيها وتتأثر بها ـ توصف بأنها البيئة المحدودة **micro - environment**؛ تمييزاً لها عما يحيط بها من بيئاتٍ أخرى، تختلف هى عنه فى المحتوى الغذائى ورقم الحموضة والتهوية وغيرها من العوامل المؤثرة فى النمو.

ولا يجب إغفال تأثير درجة الحرارة على نمو الفطريات على المواد المتاحة بالطبيعة، حيث إن مثل هذه المواد تكون مغطاةً بنمواتٍ كثيفةٍ من الأحياء الدقيقة التى يتوقف

نشاطها على درجة الحرارة السائدة؛ فإذا توالى تغيرٌ درجة الحرارة خلال اليوم الواحد، تغير نشاط تلك الأحياء الدقيقة ـ ومنها الفطريات بطبيعة الحال ـ طبقاً لذلك؛ حيث تختلف درجة الحرارة المثلى من كائنٍ إلى آخر.

وكذلك الحال فى رقم حموضة الوسط؛ الذى يؤثر فى نشاط الأحياء الدقيقة القاطنة فيه. فلكل كائن حى رقم الحموضة المناسب لأقصى نشاطٍ له **optimal pH value**. ومن المعروف أن الفطريات يزداد نشاطها فى الوسط الحامضى، ولكن هذا لا يعنى ـ بالضرورة ـ تَوَقُّف نشاط الفطريات فى الوسط القلوى؛ حيث إن بعض الفطريات المحللة للسيليلوز يزداد نشاطها عند رقم حموضةٍ عالٍ، قد يصل إلى ٨,٥ .

٨- الظروف البيئية

معظم الدراسات البيئية **ecological studies** التى أُجريت على الفطريات تم إجراؤها باستعمال التربة كمادةٍ لإنماء الفطر عليها. وحيث إن مثل هذه الأنواع الفردية من الفطريات نادراً ما تنمو وحيدةً على المواد الطبيعية، وإنما تكون ـ عادةً ـ متداخلةً ومتزاملةً مع غيرها من الأنواع الأخرى للفطريات والبكتيريا بل والطحالب أيضاً فى المناطق المعرضة للضوء، فإن مثل هذه الدراسات البيئية لم تبين الواقع الذى تعيشه أنواع محددة من الفطريات فى الطبيعة.

ولا تقتصر علاقة الفطريات بالطبيعة فى علاقة تلك الفطريات بغيرها من الأحياء الدقيقة، بل إن الفطريات تتداخل مع نشاط أحياءٍ أخرى كثيرةٍ؛ مسببةً منافع لاحصر لها، أو أضراراً شديدة الوطأة؛ مثال ذلك علاقاتها مع النباتات الراقية، وأيضاً مع الحشرات، والنيماتودا، والأكاروس، والحلم.

وعندما تنمو مستعمرة لأحد الفطرياتِ على مادةٍ ما، فإن هيفات الفطر وتراكيبه الأخرى تشغل حيزاً من هذه المادة؛ مُكَوِّنةً مستعمرةً فطريةً **fungal colony**، ولكن هذا لا يعنى خلو هذه المستعمرة من أحياء أخرى كانت موجودةً قبل نمو هيفات الفطر؛ ويعنى ذلك أنه لا توجد مزرعة نقية **pure culture** لأى كائنٍ حيّ فى الطبيعة.

فإذا كانت المواد الموجودة فى الطبيعة معرضةً للهواء، تساقطت عليها آلاف الجراثيم الفطرية الموجودة فى الهواء، والتى تبدأ فى الإنبات، ثم النمو إذا كانت رطوبة المادة تسمح بذلك. وكذلك الحال فى المواد الملامسة للتربة، فإن كثيراً من فطريات التربة النامية ستجد فى هذه المادة الجديدة مصدراً إضافياً للغذاء، وتشرع فى النمو عليها.

وتختلف الفطريات ـ فيما بينها ـ من حيث تعاقب مهاجمتها للمواد الموجودة فى الطبيعة؛ فعلى سبيل المثال هناك مايسمى بـ «الفطريات المحبة للسكريات **sugar fungi**»؛ التى تتميز بنموها السريع وبجرثمها على المواد السكرية البسيطة القابلة للذوبان فى الماء، وكذلك على المواد النيتروجينية. فإذا ما استهلكت هذه المواد الغذائية، قلّ نشاط هذه الفطريات، وظهرت فطريات أخرى يمكنها الاستفادة من المركبات الأخرى الشديدة التعقيد؛ مثل الهيميسليلوز، والسيليلوز؛ وذلك من خلال إفرازها للإنزيمات المحللة الخارجية **extracellular enzymes** .

وعادةً مايصاحب نمو هذه الفطريات المحللة للمركبات المعقدة فطرياتٌ أخرى ثانوية **secondary fungi**، تتغذى على بعض السكريات البسيطة الناتجة من تحلل المركبات المعقدة؛ وهذا يسبب صعوبةً عند عزل المجموعة الأولى من الفطريات فى المعمل؛ باستعمال بيئاتٍ غذائيةٍ تحتوى على سكرياتٍ بسيطةٍ، حيث سرعان ماتنمو الفطريات الثانوية المصاحبة لها، وتكوّن جراثيمها، دون أن تعطى الفرصة للفطريات المحللة للمركبات المعقدة لكى تنمو هى الأخرى.

ويتضح مما سبق أن معظم المواد الموجودة فى الطبيعة يتعاقب عليها نشاط الأحياء الدقيقة؛ مثل الفطريات، والبكتيريا، إلا أن الفطريات تتميز بقدرتها على اختراق المواد التى تنمو عليها بواسطة هيفاتها، كما أن الفطريات يمكنها النمو تحت ظروف انخفاض الرطوبة النسبية حتى ٦٥٪، بينما نادراً ماتنمو البكتيريا على سطوح المواد عندما تنخفض الرطوبة النسبية عن ٩٥٪.

٩- تأثير الفطريات الأخرى:

نظراً لتداخل نمو الأنواع المختلفة من الفطريات فى الطبيعة فيما بينها، وأيضاً مع غيرها من الأحياء الدقيقة الأخرى كالبكتيريا التى تشاركها بيئتها، فإن هذه الفطريات تتأثر بما يجاورها من أحياءٍ بطرقٍ مختلفةٍ.

ففى الحالات البسيطة، تتنافس هذه الأحياء الدقيقة على المواد الغذائية المتاحة، وينتج عن ذلك عدم قدرة بعض الأنواع على المنافسة؛ فتكف عن النمو والنشاط، بينما تنمو أنواع أخرى وتزدهر. ومن الصعب التكهن بأى من الفطريات ستكون له السيادة عند نموه فى بيئة تعج بالأحياء المختلفة؛ وذلك من خلال معرفتنا بمعدل نموه على البيئات الغذائية فى المعمل؛ حيث إن النمو السريع للفطريات فى المزارع النقية لا يعنى - بالضرورة - قدرتها على منافسة غيرها من الأحياء الدقيقة للحصول على العناصر الغذائية، وخاصة إذا عز وجودها.

وفى حالات أخرى تنمو بعض أنواع الفطريات بصورة متداخلة، ينتج عنها نموات غير طبيعية؛ مثال ذلك تكوين تراكيب جرثومية متقزمة أو غير مألوفة . وقد تستمر النموات الهيفية عقيمة؛ أى لا ينتج منها أية جراثيم. وعلى ذلك فإنة من غير المأمون استخدام تحضيرات من فطريات تنمو تحت مثل هذه الظروف بغرض تعريفها أو دراسة صفاتها التركيبية.

ولا يقتصر التنافس بين الأحياء الدقيقة على مصادر الغذاء، ولكن هناك أيضاً أحياء يضاد بعضها بعضاً؛ فعند نمو بعض أنواعٍ الفطريات بالقرب من مستعمراتٍ فطريةٍ أخرى، فإننا نلاحظ وجود مناطق دائريةٍ حول مستعمراتها خالية من النمو؛ نتيجة لتثبيط نمو الأحياء الأخرى من حولها؛ ويدل ذلك على إفراز مثل هذه المستعمرات الفطرية لمادةٍ سامةٍ **toxic substance** تنساب خلال بيئة النمو. وتعرف مثل هذه المواد بـ «المضادات الحيوية **antibiotics** ».

وعلى العكس مما سبق، فإن وجود نموات فطرية لفطر ما قد يعمل على تشجيع نمو ونشاط فطر آخر يشاركه بيئته وينمو بجواره. وعادةً ماتنمو فطريات مختلفة على مادة غذائية معينة، مما يعرض هذه المادة إلى نموات هذه الفطريات التى تفرز إنزيمات مختلفة؛ فعلى سبيل المثال يفرز أحد الفطريات إنزيمات تحلل المركبات المعقدة مثل السيليلوز واللجنين؛ مما ينتج عنه مركبات بسيطة تصلح لتغذية مجموعة أخرى من الفطريات، بينما تستفيد مجموعة ثالثة من نواتج التمثيل الغذائى للفطريات السابقة؛ وعلى ذلك تتحلل المركبات المعقدة فى الطبيعة على عدة مراحل؛ نتيجة تبادل نشاط الكائنات الحية الدقيقة عليها.

وهناك حالات أخرى يُخلّق فيها أحدُ الفطريات بعضَ المواد المشجعة للنمو **growth substances** بكمية تفيض عن احتياجاته، وقد تكون ضروريةً لنمو أنواع أخرى من الفطريات؛ حيث يطلق على هذه الظاهرة «**Heald-Pool effect**»؛ نسبةً إلى العالمينْ **Heald & Pool (1908)** اللذين لاحظا ذلك التأثير لأول مرة.

ولقد درس العالمان السابقان طبيعة نمو الفطر ***Melanospora (Sordaria) pampeana*** على البيئات الغذائية فى المعمل، فوجدا أن نمو هذا الفطر فى مزرعة نقية يكون ضعيفا، ولا يكوّن أجساماً ثمريةً أسكيةً دورقيةً **perithecia**، ولكن عند نموه فى مزرعة مختلطة مع الفطر ***Fusarium moniliforme***، فإن الفطر الأول ينمو بصورة جيدة مكوناً أجسامه الثمرية على البيئة.

وعلل الباحثان السابقان هذه الظاهرة بأن الفطر ***M. pampeana*** لايكوّن أجسامه الثمرية الدورقية عندما ينمو على بيئة غذائية لاتحتوى إلا على أملاح وسكر، ولكن يتم تشجيعه على النمو وإنتاج الأجسام الثمرية عندما ينمو فى بيئة مختلطة مع أحد الفطريات المترممة أو البكتيريا؛ وذلك لاحتياج هذا الفطر إلى ثيامين **thiamin** وبيوتين **biotin** لإنتاج أجسامه الثمرية، ويمكنه الحصول عليهما من أحد الأحياء الدقيقة المكونة لمثل هذه المواد المنشطة للنموّ **growth - substances** .

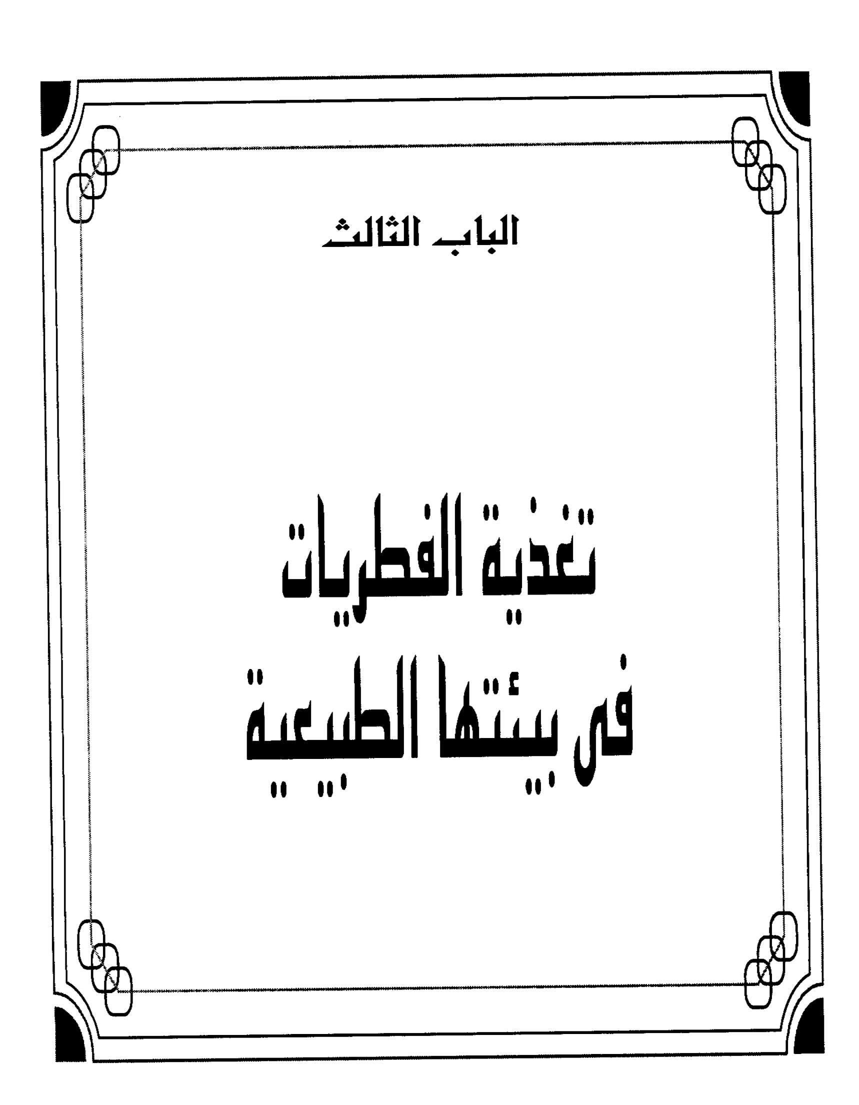
ومن العلاقات الأخرى الموجودة بين الفطريات وبعضها التطفل **parasitism**، حيث تُهاجَم الفطرياتُ الراقية ذات الثمار اللحمية الكبيرة (مثل فطريات عيش الغراب) بواسطة أنواعٍ عديدةٍ من الفطريات الصغيرة الحجم **micro-fungi** ، كما أن بعضاً من هذه الفطريات المتطفلة على ثمار عيش الغراب تتعرض هي الأخرى لأن يتطفل عليها فطريات مختلفة تحت ظروف المعمل.

وعلى سبيل المثال، فإن المزارِع الفطرية غير النقية للأنواع التابعة للجنس **Mucor** التي يتم عزلها من الروث، تُهَاجَم عادة بأنواعٍ من الجنس ***Chaetocladium***، كما أن هناك أعداداً لابأس بها من الفطريات التابعة لرتبة الميكورات **Mucorales** تتطفل عليها أنواع من الجنس ***Piptocephalis***.

وهناك مثال آخر على حالات التطفل بين الفطريات بعضها وبعضٍ، مثال ذلك المرض البنسليومي **the *Penicillium* disease** الذى يصيب الفطر ***Aspergillus niger***، حيث إن الفطريات المتطفلة فى هذه الحالة تنتمى إلى قسم **Biverticillata-Symmetrica** ؛ وهى عادةً للفطر ***P. rugulosum*** أو الأنواع الشديدة القرابة منه.

وتظهر أعراض الإصابة فى هذه الحالة على صورة نمو هيفات الفطر المتطفل بكثافة على مثانة (رأس **head**) الفطر ***Aspergillus***؛ مكونةً عناقيد من الحوامل الكونيدية ذات شكل الفرشاة واللون الأخضر الداكن، وتسبب قتل الفطر العائل. وهناك ـ بالإضافة إلى ماسبق ـ فطريات أخرى تهاجم كونيديات بعض الفطريات وتتغذى عليها؛ ومن أمثلة هذه الفطريات المتطفلة الفطر ***Gliocladium roseum***.





الباب الثالث

تغذية الفطريات في بيئتها الطبيعية

تغذية الفطريات فى بيئتها الطبيعية

١- مقدمة :

تعتبر الفطريات – بصفة عامة – إجبارية التغذية الكيميائية غير الذاتية-**obligate chemoheterotrophs**. وحيث إنها لاتستطيع تمثيل غذائها بنفسها؛ لذلك فهى تحتاج إلى مواد غنية فى الطاقة لتتغذى عليها، وتحصل منها على احتياجاتها من الطاقة ومن المواد الأولية التى تبنى منها كتلتها الحيوية.

وتنتج الفطريات – أثناء نموها – مدى عريضاً من الإنزيمات الخارجية **-extracellular enzymes**، وخاصة الإنزيمات المؤكسدة **oxidases** ، وإنزيمات التحليل المائى **hydrolases** . ويمكن للفطريات الاستفادة من معظم المواد العضوية المتوفرة فى البيئة من حولها؛ بما فيها السيليلوز، والشيتين، والنشا، والسكريات، والهيميسيليلوز، واللجنين.

وتعتبر الكربوهيدرات – عادةً – أكثر مصادر الكربون المتاحة للفطريات؛ حيث تعمل الفطريات على التغذية عليها؛ فتحصل منها على الطاقة، كما تعمل نواتج التمثيل الغذائى للكربوهيدرات على إنتاج مركباتٍ وسطيةٍ أخرى يتم استخدامها فى بناء تراكيب فطرية جديدة.

وحيث إن الفطريات يمكن اعتبارها نموذجاً تقليدياً للكائنات الحية غير الذاتية التغذية، فإن تمثيلها الغذائى – فى أساسه – متطابق إلى حدٍّ بعيدٍ مع التمثيل الغذائى لغيرها من الأحياء غير الذاتية التغذية؛ مثل البكتيريا التى تسلك هذا السلوك.

وهناك مصادر كربونية أخرى يمكن للفطريات استخدامها فى التغذية؛ مثال ذلك الكحولات، والهيدروكربونات، والجليسرول، والنشا.

وتحصل الفطريات على احتياجاتها من النيتروجين ـ غالباً ـ فى صورة أمونيا، فى حين أن معظمها يمكنه الاستفادة من النترات كمصدرٍ للنتروجين. ومن أهم الفطريات الصناعية فطر الخميرة ***Saccharomyces cerevisiae***؛ وهو لايماثل غيره من الفطريات؛ فهو لايستطيع الاستفادة من النترات كمصدرٍ للنتروجين.

وتعتبر النترات ـ بصفة عامة ـ سامةً للفطريات، وعلى الرغم من ذلك فإن بعض الفطريات تستعملها كمصدرٍ للنتروجين وتمثلها غذائياً. ومن مصادر النتروجين الأخرى التى تستفيد منها الفطريات اليوريا **urea**، وهيدروكسيل الأمين **hydroxylamine**، بالإضافة إلى الأحماض الأمنية **L-amino acids**، والببتيدات **peptides**، بينما تعتبر الأحماض الأمنية **D-amino acids** ـمع ذلكـ مصدراً فقيراً للنتروجين، وأحياناً تكون سامةً للفطريات.

ويعتبر هضم البروتين من أهم صفات عديدٍ من الأطعمة الشرقية المتخمرة ذات القوام الصلب. ويستعمل فى ذلك إنزيمات خارجية محللة للسيليلوز لبعض أنواع الفطريات (مثل: ***Mucor*** ، و***Aspergillus***)؛ التى تحلل الروابط الببتيدية بين الأحماض الأمينية المتتابعة فى جزىء البروتين تحليلاً مائياً، منتجةً ببتيداتٍ معقدةً **polypeptides** ، وببتيداتٍ أقل تعقيداً **oligopeptides**، وأحماضاً أمينية **amino acids**. ويمكن للفطر استكمال تحليله لهذه المركبات السابقة؛ حتى تتكون الأمونيا التى يمكنه الاستفادة منها وتمثيلها غذائياً.

وتنمو الفطريات ـعادةـ فى المعمل على بيئاتٍ غذائيةٍ محددةِ التركيب، تحتوى على سكرياتٍ مثل الجلوكوز والسكروز، وقد تنمو الفطريات على بعض المركبات المعقدة مثل السيليلوز. وحتى وقتٍ قريبٍ، استعمل علماء الفطريات بعض البيئات الغذائية المعقدة غير المحددة التركيب لإنماء الفطريات؛ ومثال ذلك بيئة مستخلص البطاطس والدكستروز **potato-dextrose agar (PDA)**، وبيئات مستخلص الخضروات.

وعادةً مايستخدم النتروجين غير العضوى فى إمداد البيئات الغذائية بمصدرٍ نتروجينىّ فى صورة نشادرٍ، أو نتراتٍ، أو أميداتٍ، أو أحماضٍ أمينية. وقد يستعمل غاز الأمونيا كمصدرٍ للنتروجين لبعض الفطريات المستخدمة فى التخمرات الصناعية.

وبالإضافة إلى ماسبق، فهناك بعض العناصر الغذائية الكبرى التى تحتاج إليها الفطريات فى نموها ونشاطها؛ مثال ذلك الفوسفور، والكبريت، والبوتاسيوم، والماغنسيوم، بينما توجد عناصر صغرى مثل الزنك والنحاس والموليبدنم، بالإضافة إلى بعض الفيتامينات التى تحتاج إليها الإنزيمات الفطرية أثناء عملها، وخاصةً تحت ظروف النمو المتزايد للفطريات.

٢- تحلل المركبات المعقدة؛ خاصة السيليلوز واللجنين:

يمكن القول إن قدرة الفطريات على تحليل المركبات البسيطة والمعقدة التركيب هى واحدة من الصفات الفسيولوجية الرئيسية الهامة التى تميز هذه الكائنات الحية الدقيقة الشائعة الانتشار فى البيئة .

جدول (٣) : المركبات المعقدة التى يمكن تحليلها بواسطة الخمائر (Wainwright 1992).

المادة	نوع فطر الخميرة	الإنزيم المفرز
١ – نشا	*Saccharomyces diastaticus*	Glucoamylase
٢– سيليلوز	*Aureobasidium*	Cellulase
٣– سيلو دكسترينات	*Torulopsis*	Exo (1.4) ß- glucosidase
٤ – سيلوبيوز	*Brettanomyces claussenii*	ß- glucosidase
٥ – إنيولين	*Kluyveromyces*	Inulinase
٦– بكتين	*Aureobasidium*	Pectinase, pectin lyase
٧– زيلان	*Cryptococcus*	Endo (1.4) ß- xylanase

هذه القدرة على تحليل المركبات العضوية تجعل الفطريات دائمة النشاط في البيئة، بصرف النظر عن نوع المواد العضوية المتاحة حولها والتى تنمو عليها؛ محللةً إياها ومستفيدةً منها فى الحصول على الطاقة وعلى المواد العضوية الأولية التى تحتاج إليها فى النمو، كما أنها -خلال ذلك- تعيد تدوير هذه المخلفات فى الطبيعة.

ولقد استفاد الإنسان من هذا النشاط الحيوى للفطريات، وقدرتها على تحليل مختلف المركبات العضوية فى تقنياتٍ حيويةٍ حديثةٍ تعتمد عليها عدد من الصناعات التى تستخدم فيها مثل هذه الفطريات.

ويعتبر السيليلوز أهم المركبات المعقدة النباتية؛ حيث يكوّن حوالى ٤٠٪-٥٠٪ من مكونات الجدار الخلوى للنباتات الناضجة. ويتركب السيليلوز من عديدٍ من جزيئات الجلوكوز التى ترتبط بعضها ببعض فى سلاسل طويلةٍ برابطةٍ من النوع بيتا ١-٤ [ß (1-4)].

ويتركب جزىء السيليلوز من سلاسل طويلةٍ مستقيمةٍ (غير متفرعة)، تحتوى كل سلسلةٍ منها على حوالى ثلاثة آلاف جزىءٍ جلوكوزاً، قد تكون موجودة عشوائياً؛ مكونةً سيليلوزاً غير متبلورٍ **amorphous cellulose** ، أو قد تكون موجودةً فى صورة ليفاتٍ دقيقةٍ مندمجةٍ؛ مكونةٍ سيليلوزاً متبلوراً **crystalline cellulose** .

ويتم تحليل السيليلوز بواسطة إنزيمات شائع إنتاجها بواسطة الفطريات؛ منها إنزيم **endo- ß- glucanase** ، وإنزيم **ß-glucosidase** ؛ حيث يحلل الإنزيم الأول سلاسل السيليلوز إلى وحدات أصغر؛ مثل السيللوبيوز **cellobiose** (يحتوى على وحدتين **dim-er**) والسيللوتريوز **cellotriose** (يحتوى على ثلاث وحداتٍ **trimer**). وعند هذه المرحلة يتم تحليل السيللوبيوز بواسطة الإنزيم الثانى؛ حيث ينفرد الجلوكوز الذى يصبح متاحاً لامتصاصه داخل خلايا الفطر، ثم تمثيله غذائياً كمصدرٍ للكربون.

ويتوفر السيليلوز المتبلور فى الطبيعة؛ حيث يتم تحليله عن طريق إنزيم **exo- ß- glu-canase** الذى يعمل على انشقاق وحدتى سكر متتاليتين (سيللوبيوز) من نهاية

سلاسل السيليلوز. وهناك قليل من الفطريات القادرة على إفراز هذا الإنزيم، بالمقارنة بالإنزيمين السابقين .

وتنتشر الفطريات المحللة للسيليلوز بوفرةٍ فى الطبيعة، وأكثرها فاعليةً هى تلك الأنواع التابعة للأجناس***Chaetomium*** ، ***Fusarium***، ***Myrothecium*** ، ***Trichoderma*** .
ويتكون إنزيم **cellulase** من معقدٍ إنزيمي؛ حيث يتم تخليقه عند وجود مادة التفاعل؛ وهى السيليلوز.

ويجيء اللجنين فى المرتبة الثانية بعد السيليلوز بالنسبة إلى المواد الطبيعية المعقدة الشائع وجودها على سطح الأرض، ومع ذلك فإنه من الصعب تحليله بالمقارنة بالسيليلوز. ويعتبر جزيء اللجنين معقد التركيب ثلاثى الأبعاد؛ حيث يتكون من ثلاثة أنواعٍ من الوحدات البنائية الأساسية؛ هى: كحولات السيناميل **cinnamyl alcohols** ذات التركيب المحتوى على فنيل ـ بروبان **phenyl-propane (C6-C3)** ؛ حيث يتم ارتباط الحلقات –بعضها ببعض– برابطة **(-C-C-)** أو **(-C-O-C-)** سواء عن طريق الإرتباط من ناحية سلاسل البروبان، أم عن طريق الإرتباط بين حلقةٍ وسلسلة جانبيةٍ. وأحياناً يتم ارتباط أكثر من رابطةٍ واحدةٍ بين أى وحدتين بنائيتين.

لذلك نلاحظ أن جزيء اللجنين شديد التعقيد؛ ولذا فليس من المثير للدهشة أن قليلاً من الأحياء الدقيقة ـ وغالباً من الفطريات والأكتينومايسيتات ـ هو الذى تكون لديه القدرة على إنتاج الإنزيمات اللازمة لتحليله.

ويبدو أن عملية هدم اللجنين تشمل آليتين، يتم فى الأولى تحلل الجزيء إلى وحداتٍ أقل تعقيداً، بينما فى الثانية يتم كسر السلاسل الجانبية والروابط المزدوجة فى موضعها الأصلى ***in situ*** . ويدل ظهور المركبات ـ مثل حمض الفانيليك **vanillic acid**، ومركب **coniferaldehyde** ـ خلال المراحل الأولى من تحليل اللجنين، على أن الآلية الأولى هى الأكثر احتمالاً. كما أظهرت الدراسات الحديثة تكسُّر التركيب الحلقى فى اللجنين.

phenyl propanoid unit

VANILLIC ACID

PROTOCATECHUIC ACID

KETO-ADIPIC ACID

شكل (١١) : التركيب الكيمائى للجنين Lignin ، ثم مراحل تحليله .

وتبدأ سلسلة تحليل اللجنين بإزالة مجموعة المثيل **demethylation**؛ مما ينتج عنه أحماض فينولية ثنائية **diphenolic acids**؛ تحتوى على مجموعتى هيدروكسيل متجاورتين.. وعندئذٍ يتم فتح الحلقات عن طريق إنزيمات الأكسدة **dioxygenase**؛ لتعطى سلسلةً مستقيمةً (أليفاتية) **aliphatic chain** متصلة باللجنين، وتنفصل هذه السلاسل الأليفاتية من المركب المعقد بواسطة إنزيم أكسدة **oxygenase enzyme**؛ مثل إنزيم **laccase** ، ويتم تحلل السلاسل الجانبية الأليفاتية بواسطة الأكسدة.

وتعتبر الصفة المميزة لتحليل اللجنين هى مراحل الأكسدة العالية؛ حيث يعتبر الباحثون الذين درسوا مراحل تحليل اللجنين أن هذا الجزىء يتحطم عن طريق تفاعلات الأكسدة. ويطلق على الفطريات المحللة للجنين اسم «فطريات العفن الأبيض **white rot fungi**».

٣- النواحى التطبيقية للأنظمة المحللة للجنين :

توصف الفطريات المحللة للجنين بأنها تلك المسببة للأعفان البيضاء.. ونظراً لقدرتها على تحليل اللجنين، فإنها تستخدم فى عديدٍ من التقنيات الحيوية المختلفة المفيدة للإنسان؛ سواء بطريقةٍ مباشرةٍ، أم غير مباشرةٍ.

وفيما يلى بعض الاستخدامات التطبيقية لمثل هذه الفطريات؛ مثال ذلك الفطر ***Phanerochaete chrysosporium***:

أ- إزالة اللجنين حيوياً :

يعتمد على الفطريات المحللة للجنين بصورةٍ أساسية فى إنتاج لباب الخشب **wood pulp** المستخدم فى صناعة الورق. ولقد تقدمت هذه الصناعة تقدماً كبيراً؛ وذلك بخفض الطاقة اللازمة لتجهيز اللباب ميكانيكياً؛ وذلك عن طريق استخدام الفطريات المحللة لللجنين وإضافتها إلى الخشب المبشور. وتستخدم - عادة - طفرات من بعض هذه السلالات الفطرية؛ تتميز بقدرتها المحدودة على تحليل السيليلوز، بينما تكون قدرتها على تحليل اللجنين عاليةً.

ب - تبييض لباب الخشب :

تلجأ بعض مصانع الورق -حديثاً- إلى استخدام التبييض الميكروبى بدلاً من استخدام الكيماويات فى تبييض عجينة لباب الخشب المستخدمة فى صناعة الورق؛ حيث يتم الحصول على ورقٍ ناصع البياض أملس لامعٍ عالى الجودة، بطريقة حيوية غير ملوثة للبيئة.

حـ - معالجة المياه المحتوية على مخلفات لجنينية :

يمكن لبعض الفطريات تحليل سلفونات اللجنين **lignin sulphonates**، وكذلك مشتقات اللجنين المتخلفة فى مياه الصرف الصحى والناتجة من مصانع الورق؛ مما يقلل من تلوث البيئة.

د - تحويل اللجنين إلى مواد كيمائيةٍ مفيدةٍ:

يعتبر هذا الاتجاه من الاتجاهات العلمية الحديثة المفيدة للبيئة، ويعتمد على استعمال فطرياتٍ معينةٍ قادرةٍ على إنتاج مواد ذات أهميةٍ اقتصادية كنواتجٍ ثانويةٍ من عملية التمثيل الغذائى لللجنين.

٤- استراتيجيات تغذية الفطريات فى الطبيعة :

تنمو الفطريات -عادةً- فى البيئة؛ إما مترممةً على المخلفات العضوية، وإما متعايشة مع غيرها من الكائنات الحية الأخرى من حولها، أو قد تتطفل عليها. وتلعب الفطريات المترممة مع البكتيريا والمفصليات الأرجل الصغيرة **microarthropods** دوراً هاماً فى تحليل المركبات الكربوهيدراتية المعقدة فى الطبيعة؛ ومثال ذلك أوراق الأشجار وفروعها، وكتل الأخشاب الميتة المتساقطة.

وتعتبر الأحياء الدقيقة المترممة السابقة ذات دورٍ بارزٍ فى تحليل المركبات النيتروجينية المعقدة إلى نشادرٍ؛ مما يسهل امتصاصها بواسطة جذور النبات.

ومن ناحية أخرى تلعب الفطريات المتطفلة **parasitic fungi** دوراً هاماً كممرضات للمحاصيل الاقتصادية، وتسبب أعفاناً مختلفةً للثمار والحبوب المخزونة، كما تسبب الفطريات أمراضاً للإنسان والحيوان، إلا أن بعض الفطريات تفرز مواد تقلل من عدم تقبل الجسم للأعضاء الغريبة؛ مما يسهل عمليات نقل الأعضاء.

وتشارك الفطريات حياة نوعين من النباتات؛ مكونةً معها نمطاً من تبادل المنفعة؛ حيث يشارك بعضها حياة جذور النباتات الراقية؛ مكونةً مايسمى بـ «الجذور الفطرية» (الميكوريزا **mycorrhiza**)، بينما يشارك البعض الآخر من الفطريات حياة بعض الطحالب مكوناً مايسمى بـ «الاشنيات **lichens**».

وتتكون الميكوريزا من تركيبٍ معقدٍ يحتوى على هيفات الفطر وجذور النباتات الراقية، حيث تبدو هذه المشاركة إما داخلية **endomycorrhiza** ، وإما خارجية **ec-tomycorrhiza** ؛ ففي النوع الأول، تتكون هيفات الفطر بأعدادٍ كبيرةٍ على السطح الخارجي للجذر؛ ممتدةً لمسافاتٍ بعيدةٍ عنه، بينما تتخلل بعض هذه الهيفات طبقة القشرة؛ مكونةً تركيباتٍ فطريةً داخل خلاياها.

ويظهر على جذور بعض الأوركيدات **orchids** نوع من هيفات فطريات الميكوريزا الداخلية التابعة لطائفة الفطريات البازيدية. ويشاهد هذا النمط من الميكوريزا –أيضاً– في جذور بعض النباتات النجيلية ذات الأهمية الاقتصادية العالية.

أما في الميكوريزا الخارجية، فإن الفطر يكوّن غلالةً تتخلل هيفاتها الجذورَ الجانبية؛ وخاصة في أشجار الغابات؛ مثل: البلوط، والصنوبر. وتنتمى عديد من هذه الفطريات إلى طائفة الفطريات البازيدية.

وتحصل فطريات الميكوريزا – بصفةٍ عامةٍ من النباتات التى تنمو على جذورها أو داخلها– على نواتج التمثيل الضوئى ومشتقاتها الحيوية الهامة التى لايمكن لهذه الفطريات تكوينها بنفسها، بينما يمد الفطر شريكه النباتى بالعناصر الغذائية الهامة التى تعجز جذور النباتات عن امتصاصها بنفسها من التربة؛ مثل الفوسفور.

وقد تساعد فطرياتُ الميكوريزا النباتَ فى حصوله على احتياجاته المائية، وخاصة فى المناطق الجافة وشبه الجافة من العالم. وتعمل هيفات فطريات الميكوريزا على الانتشار بين حبيبات التربة فى مناطق تبتعد كثيراً عن سطح الجذور؛ حيث تمتص منها الماء، وتنقله إلى قشرة الجذور مباشرةً، فى الوقت الذى تمتد فيه الشعيرات الجذرية إلى مسافاتٍ محدودةٍ جداً عن سطح الجذور، ولاتستفيد إلا بما يحيط بها من ماءٍ حرّ.

وفى حالة الأشنيات، يشترك فى هذا التركيب المعقد لها معاشر طحلبى **phycobiont** ومعاشر فطرى **mycobiont**. ويكوّن الفطر -عادةً- حوالى ٩٠٪ من الوزن الجاف للأشن. وهناك حوالى ١٨ ألف نوعٍ من الأشنيات تم تعريفها، بعضها يكوّن نمواتٍ قشريةً على سطوح الأشجار والصخور الرطبة، بينما ينمو البعض الآخر فى شكلٍ شجيرىٍ. كما تتلون هذه النموات الأشنية بألوانٍ متباينةٍ جميلةٍ؛ بحيث تظهر فى أبهى صورةٍ بين جيرانها من الأحياء الأخرى.

ولقد أظهرت الدراسات الفسيولوجية لطبيعة العلاقة الغذائية بين الفطر والطحلب داخل تركيبهما المشترك (الأشن)، أن نصف ماينتج عن التمثيل الضوئى للطحلب -تقريباً- يستهلكه الفطر المشارك فى غذائه ونموه؛ فإذا ماكان الطحلب نوعاً من الطحالب الخضراء المزرقة - والتى تعرف باسم السيانوباكتريا **cyanobocteria** -فإن هذا الطحلب يقوم أيضاً - بالإضافة إلى التمثيل الضوئى، وتكوين المواد الكربوهيدراتية - بتثبيت النتروجين الجوى؛ مكوناً مواد بروتينيةً يمد بها شريكه الفطرى السعيد الحظ.

ولم تُظهر الأبحاث المختلفة حصول الطحلب على فائدةٍ ما من شريكه الفطرى، ولكن - فى الحقيقة - فإن اشتراك الفطر والطحلب معاً فى حياةٍ متبادلةٍ مكنهما من الحياة فى الظروف الصعبة، وتحمل كثيرٍ من العوامل البيئية القاسية التى قد تُهلك أيّاً منهما إذا نما منفرداً عن شريكه الآخر.

ومن ناحيةٍ أخرى، ناقش عديد من الباحثين -مثل **Crittenden & Porter (1991)** - أهمية المواد التى تنتجها الفطريات المشاركة فى تكوين بعض الأشنيات؛ مثال ذلك: الصبغات، والسكريات، والكحولات.

ويمكن استخدام بعض أنواع الأشنيات كغذاءٍ؛ حيث يحتوى الأشن ***Citriria isi-rudica*** على نسبةٍ عاليةٍ من الكربوهيدرات، تصل إلى نصف ماتحتويه حبوب القمح، كما أن بعض أنواع الأشنيات ذات أهميةٍ طبيةٍ؛ حيث تستخدم فى علاج بعض الأمراض، كالسل، وداء الكلب، بل ويستخدم الأشن ***Usnea barbata*** لعلاج الصلع.

ولقد أوضحت بعض الدراسات الحديثة أن بعض الأشنيات لها قدرة على تضاد نمو بعض الميكروبات الضارة، بينما يمكن لمسحوقها الجاف قتل الحشرات. وهناك بعض أنواع الأشنيات ذات الرائحة العطرية، والتى تستخدم تجارياً لإنتاج أرقى العطور، مثل ***Lobaria pulmonaria*** .

٥- تباين التمثيل الغذائى فى الفطريات :

معظم الفطريات غير ذاتية التغذية الكيمائية **chemoheterotrophs**؛ حيث تسلك فى ذلك دروباً شتى؛ فعلى سبيل المثال، هناك عديد من أنواع الفطريات الهيفية يمكنها أكسدة الصور المختزلة من المركبات النيتروجينية، وكذلك أكسدة الكبريت والحديد والمنجنيز؛ وبذلك تشارك -بدرجةٍ محدودةٍ - فى مراحل إختزال النترات **de-nitrification**، ولكن بسرعةٍ أقل مما تقوم به البكتيريا.

وعلى الرغم من اشتراك الفطريات فى أكسدة تلك الصور المختزلة من المركبات النيتروجينية، إلاأنه ليس من المعروف -على وجه الدقة- الفائدة التى تعود على تلك الفطريات من هذه الأكسدة. إلا أنه -على أية حالٍ- يبدو أن الفطريات تلعب دوراً هاماً فى إعادة التوازن البيئى وتدوير المخلفات العضوية، محررةً إياها إلى مركباتٍ بسيطةٍ قابلةٍ للاستفادة بواسطة غيرها من الأحياء من حولها.

ولقد أوضحت عديد من الدراسات الفسيولوجية على الفطريات الهيفية أن معظمها يحتاج إلى ظروفٍ هوائيةٍ فى نموها، إلا أن بعضها يمكنه النمو تحت ظروفٍ قليلة التهوية microaerophilic conditions، بينما قليل منها ـ تشمل فى مجملها الأحياء الدقيقة المنتشرة فى كرش الحيوانات المجترة ـ يمكنها النمو تحت ظروفٍ لا هوائيةٍ؛ حيث تعتبر مثل هذه الفطريات لا هوائية إجبارياً obligate anaerobes.

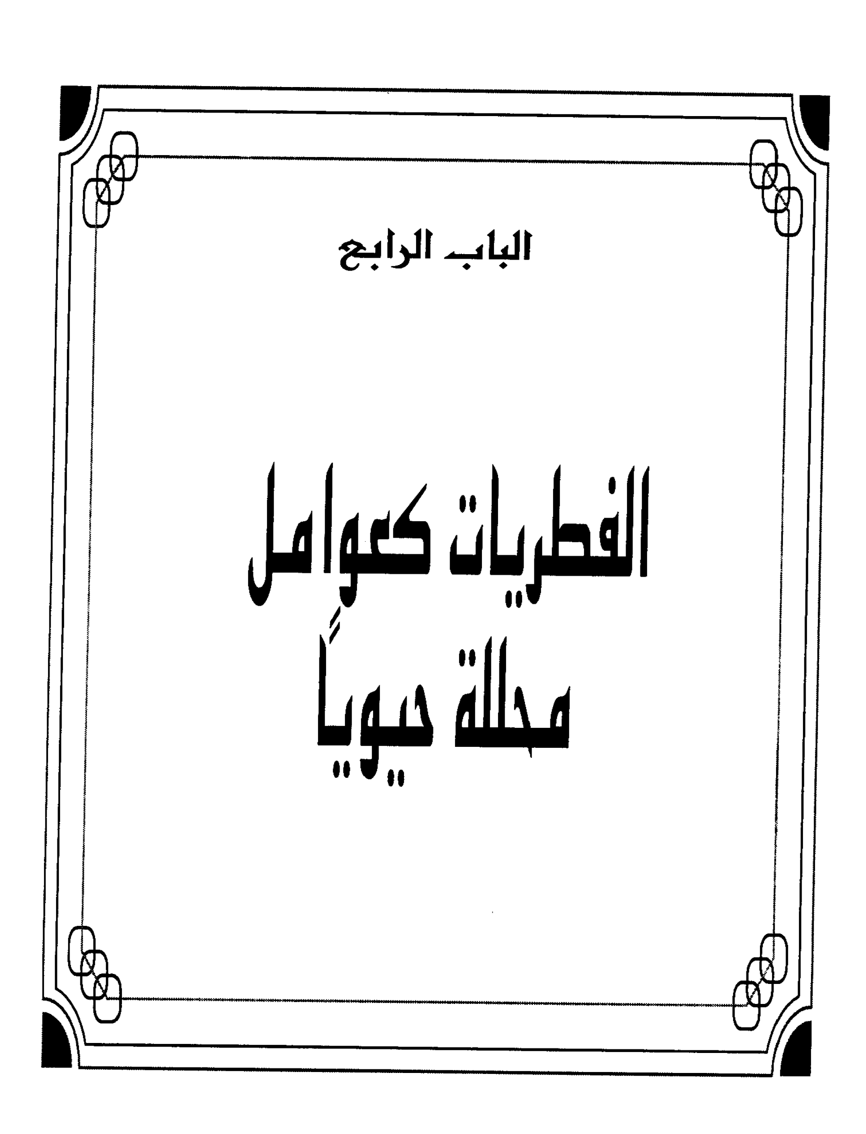
٦- نمو الفطريات تحت ظروف انخفاض التغذية:

تنمو الفطريات -شأنها فى ذلك شأن الأحياء الدقيقة الأخرى- تحت ظروف المعمل على بيئاتٍ غذائيةٍ تحتوى على كمياتٍ كبيرةٍ من العناصر الغذائية. وتحت مثل هذه الظروف ينمو الفطر نمواً جيداً منتجاً نواتج تمثيلٍ غذائىٍّ أوليةً وثانويةً بكمياتٍ كبيرةٍ.

وتستخدم مثل هذه البيئات الغذائية لإنماء الفطريات المستخدمة خلال مراحل الإنتاج الصناعى للكيمائيات الحيوية والبروتين الميكروبى single-cell protein. ومع ذلك، فإن الأبحاث الحديثة توضح أن بعض الفطريات يمكنها النمو فى الغياب النسبى للعناصر الغذائية اللازمة لنمو هذه الفطريات؛ حيث يطلق على ذلك اسم oligotro-phy.

ويبدو أنه تحت مثل هذه الظروف يمكن للفطريات أن تقوم بالتغذية على مادةٍ عضويةٍ متاحةٍ كمصدرٍ كربونيٍ، والتى قد يكون بعضها عبارةً عن مواد متطايرة؛ مثل الإسيتون، أو تكون غازاتٍ مثل الميثان. وبهذه الطريقة يمكن للفطريات الاستفادة من غاز الأمونيا الموجود فى الهواء المحيط، وكذلك الاستفادة من بعض العناصر الصغرى والفيتامينات.

وترجع أهمية قدرة الفطريات على النمو -تحت مثل هذه الظروف من إنخفاض التغذية- إلى بقائها وانتشارها فى البيئة محتفظةً بحيويتها ونشاطها، بينما لايلعب هذا السلوك دوراً مافى التقنية الحيوية للفطريات المستخدمة فى الصناعة.



الباب الرابع

الفطريات كعوامل محللة حيوياً

الفطريات كعوامل محللة حيوياً

تلعب الفطريات دوراً رئيسيًا فى هدم وإفساد مدى واسع من المواد المفيدة اقتصاديًا؛ حيث نلقى الضوء فى هذا الباب على دور الفطريات فى تلف المواد غير الغذائية والمواد الغذائية والمنتجات المخزونة. وقد لايؤدى نمو الفطريات على مثل هذه المواد إلى تحليلها تماماً، ولكنها -على الأقل- تقلل من جودتها أو صلاحيتها للاستهلاك الآدمى.

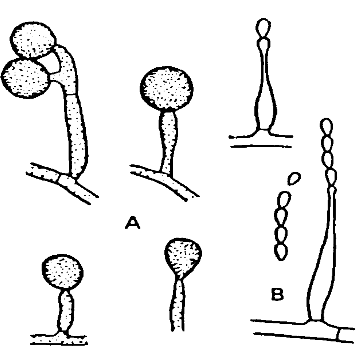
ويتوقف نمو هذه الفطريات على التفاعل بين قدرتها الترممية ونوع المادة النامى عليها الفطر **substratum / saprotroph relationship** ، حيث تعتبر الرطوبة العالية من أهم العوامل اللازمة لنمو مثل هذه الفطريات، خاصة تحت ظروف الجو الدافىء.

وتعتبر الفطريات فعالةً ومسببةً لعفن المواد المصنوعة من السيليلوز؛ مثل القطن؛ حيث زاد الاهتمام بدراسة تحليل المواد القطنية خلال الحرب العالمية الثانية، فعلى سبيل المثال، اهتم العلماء الأمريكيون بدراسة الطرق التى تمنع الفطريات من تحليل الملابس والمنسوجات القطنية التى تستعملها قواتهم المسلحة فى المحيط الباسفيكى؛ حيث الحرارة المرتفعة، والرطوبة الجوية التى تؤدى إلى نشاط الفطريات المحللة للسيليلوز.

ومن أهم هذه الفطريات، الفطر ***Chaetomium globosum*** الذى يظهر نشاطه الفائق فى تحليل ألياف القطن؛ حيث تظهر المنسوجات القطنية وقد نما الفطر عليها فى صورة بقعٍ سوداءٍ وصبغاتٍ تؤدى إلى فقدان متانة النسيج؛ نتيجة لتحليل الياف السيليلوز؛ مما يعمل على تلفه، وعدم صلاحيته للاستخدام.

ومن الفطريات الأخرى المحللة للمنسوجات والحبال المصنوعة من القطن والكتان

والمانيلا بعض الأنواع التابعة للجنس ***Aspergillus*** والجنس ***Humicola***، بالإضافة إلى الفطر ***Cladosporium herbarum***.



شكل (١٢) : الجنس *Humicola* .
A – حوامل كونيدية وكونيديات.
B – قارورات وسلاسل من الكونيديات الصغيرة.

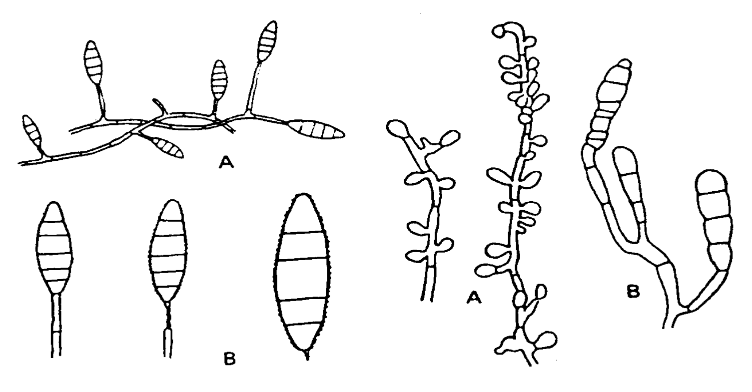
ويعتبر الفطر البحرى ***Zalerion spp.*** التابع لطائفة الفطريات الناقصة، أحد الفطريات التى تهاجم الحبال المجدولة المستعملة فى القوارب والسفن البحرية. ويسبب هذا الفطر تحليل ألياف القطن أو الكتان المصنوع منها هذه الحبال، فتتغير لونها، وتتبقع بألوان داكنة، وتنبعث منها رائحة كريهة، كا تفقد هذه الحبال متانتها وتزداد مرونتها.

ولقد أهتمت العديد من الشركات المنتجة للمنسوجات القطنية والكتانية المستخدمة فى صناعة خيام المعسكرات والحبال المجدولة وأكياس الرمال وشباك صيد السمك وغيرها، والتى تتعرض لهجوم مثل هذه الفطريات، بمعاملة المنسوجات ببعض المطهرات الفطرية مثل المحلول المائى لمادة نافثينات النحاس **Copper naphthenate** .

وحيث إن الفطريات المحللة للسيليلوز **cellulotytic fungi** تقطن التربة، فإن تحسُّن الظروف البيئية حولها يؤدى إلى زيادة نشاطها ونموها، ومن ثم إلى ارتفاع كفاءتها فى تحليل المواد السيليلوزية بسرعة وكفاءة عالية.

وحالياً، تلعب هذه الفطريات دوراً محدوداً فى تلف الأنسجة المصنوعة من القطن؛ ويرجع ذلك إلى صناعة الأنسجة من خليط من ألياف السيليلوز والألياف الصناعية، كما تستعمل بعض المطهرات الفطرية فى أثناء صناعة مثل هذه الأنسجة؛ حتى تدرأ عنها خطر هذه الفطريات المحللة للسيليلوز.

ومن ناحية أخرى، تتعرض المنسوجات الصوفية أيضاً لمهاجمة الفطريات، ولكن بدرجة أقل بالمقارنة بالأنسجة القطنية والكتانية. ومن الفطريات المحللة للصوف، بعض الأنواع التابعة للجنسين ***Microsporum*** و ***Trichophyton***، وهى أنواع قريبة الصلة من الفطريات الممرضة للجلد والتى تحلل الكرياتين **creatine** .



شكل (١٣) : بعض الفطريات المحللة للمنسوجات الصوفية.

أ - الفطر *Microsporum*

A - حوامل كونيدية وكونيديات . B - مراحل تكوين الكونيدة وتكوين الجدر العرضية.

ب - الفطر *Trichophyton*

A - كونيديات صغيرة microconidia . B - كونيديات كبيرة macroconidia .

ويمكن عزل أنواعٍ أخرى من الفطريات من الصوف، إلا أن هذه الفطريات تكون محللة لمركبات أخرى ـ مثل زيوت الخضراوات والصابون المستعمل فى الغسيل ـ والتى قد تترك أثارها خلال مراحل تصنيع المنتجات الصوفية.

ويمكن للفطريات أن تحلل الكتب وأحبار الطباعة، وخاصةً عند تخزينها فى ظروف رطبة ودافئة. ومن أمثلة ذلك ما نشر عن تلف إحدى المخطوطات الورقية التاريخية فى مدينة حلب، وقد سميت هذه المخطوطة بـ« مخطوطة حلب **Alippo codix**» ؛ وهى ذات القيمة التى لا يمكن تقديرها بمالٍ. وتعتبر هذه المخطوطة هى الجزء الأول من العهد القديم **Hebrew old Tastament**؛ والتى كتبت على ورقٍ مقوّ (بارشمنت **parchment**) فى مدينة طبرية **Tiberias**بالأرض المحتلة فى القرن العاشر قبل ميلاد السيد المسيح.

وفى عام ١٩٤٧ ، تعرضت هذه الوثيقة التاريخية لحريقٍ؛ حيث اعتقد أن حروفها السفلى قد أفسدتها النيران، إلا أن الأبحاث الحديثة أظهرت أن هذا الفساد الذى طرأ على هذه الوثيقة لا يرجع إلى الحريق، ولكن إلى تلوث الوثيقة بأنواعٍ من الفطر ***Aspergillus***.

وهناك عديد من الفطريات الأخرى التى تهاجم الخشب الخام، ومبشور الخشب المستعمل فى صناعة عجينة اللباب فى مصانع الورق؛ مثال ذلك الفطر ***Phanerochaete chrysosporium*** . كما يهاجم هذا الفطر الورق الخام، وخاصةً عند ارتفاع نسبة الرطوبة.

وينتج عن نمو هيفات الفطر على الورق إفرازه أحماضاً عضويةً. وتؤدى هذه الأحماض إلى فقد الورق لونه الناصع؛ وخاصة إذا احتوى الورق على بعض المكونات الراتنجية خلال تصنعيه. كما أن الأحبار المستعملة فى الطباعة تكون ذات تأثيرٍ حامضيّ عادةً؛ وهذا يعجل بفساد الورق وتدهوره.

كما أن تعريض الورق للضوء يفسده ويجعله هشاً سهل التقصف بعد فترةٍ قصيرةٍ؛

فإذا ما تعرض مثل هذا الورق لرطوبةٍ جويةٍ عاليةٍ، فإنه يمتصها، ويحتفظ بها؛ ويؤدى ذلك إلى تشجيع نمو الفطريات عليه وتدميرها لمكوناته.

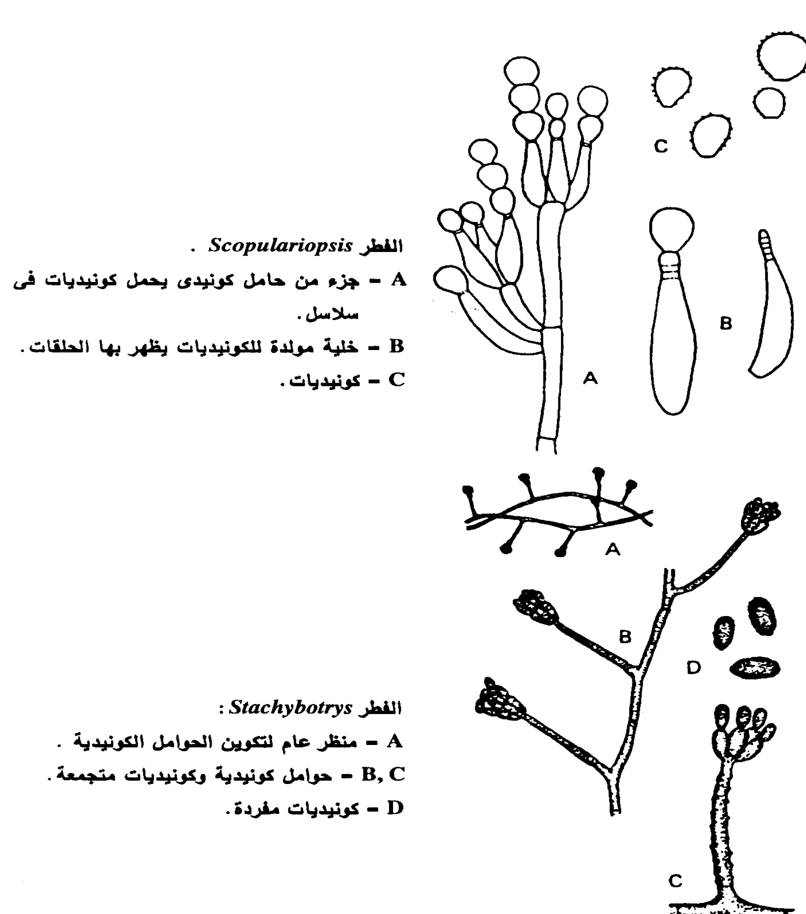
ويتركب الورق أساساً من ألياف السيليلوز، بالإضافة إلى كمياتٍ مختلفةٍ من المواد الغروية، كما أن الكتب القديمة تحتوى على كمياتٍ من العجائن المستعملة فى التجليد، والتى تتركب -غالباً- من الدقيق والدكسترين. وتعتبر المركبات السابقة مصادر جيدةً لتغذية الفطريات وتشجيع نموها؛ ومن ثم تصبح هذه الكتب ـ بفعل الفطريات ـ أكثر عرضةً للتدهور من غيرها من الكتب الحديثة.

ومعظم الفطريات التى تنمو على الورق والكتب القديمة عبارة عن أنواعٍ مختلفةٍ تتبع الأجناس ***Chaetomium*** و ***Penicillium***، بالإضافة إلى الفطريات ***Trichoderma viride***، و ***Cladosporium herbarum*** و ***Stachybotrys alba***.

وفى الأماكن الرطبة -مثل الحمامات والمطابخ- ينمو الفطر ***Chaetomium globosum*** على ورق الحائط متغذياً على الألياف السيليلوزية، بينما تؤدى زيادة الرطوبة الجوية لأكثر من ٧٠٪ إلى انتشار نمو الفطريات على سطوح الكتب، وقد تتخلل المواد المستعملة فى التجليد.

كما أن بعض الأنواع الفطرية -وخاصةً تلك التابعة للجنسين ***Penicillium*** و ***Trichoderma***- تكوّن أعداداً هائلةً من الجراثيم المسحوقية التى تنتشر بسهولةٍ فى الهواء؛ ومن ثم تعمل كمصدر عدوى جديدٍ للكتب.

وتتحول أوراق الكتب التى تعرضت للنمو الفطرى إلى لونٍ مصفرٍ. كما أن كثيراً من الفطريات التى تهاجم الورق -مثل الأنواع التابعة للجنس ***Aspergillus*** - ينتج عن نموها أحماض عضوية، بالإضافة إلى إفرازها للإنزيمات المحللة للسيليلوز، وتؤدى تلك الإفرازات الفطرية إلى فساد الورق وتدهوره.



الفطر *Scopulariopsis* .

A – جزء من حامل كونيدى يحمل كونيديات فى سلاسل.

B – خلية مولدة للكونيديات يظهر بها الحلقات.

C – كونيديات.

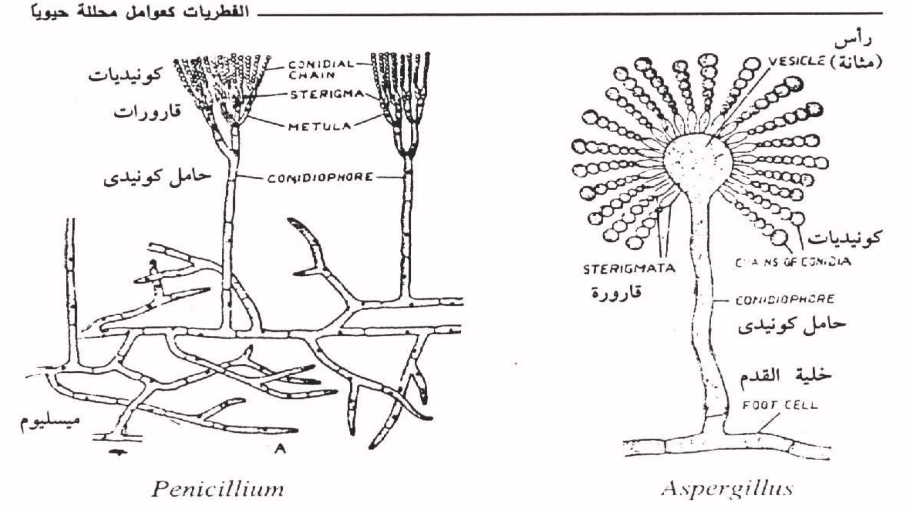
الفطر *Stachybotrys* :

A – منظر عام لتكوين الحوامل الكونيدية .

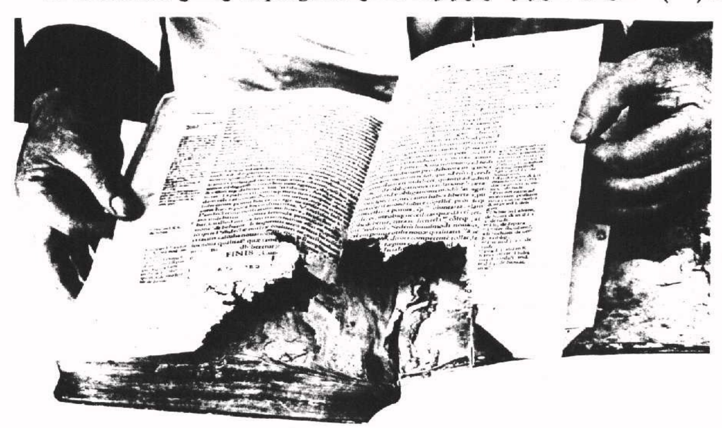
B, C – حوامل كونيدية وكونيديات متجمعة.

D – كونيديات مفردة.

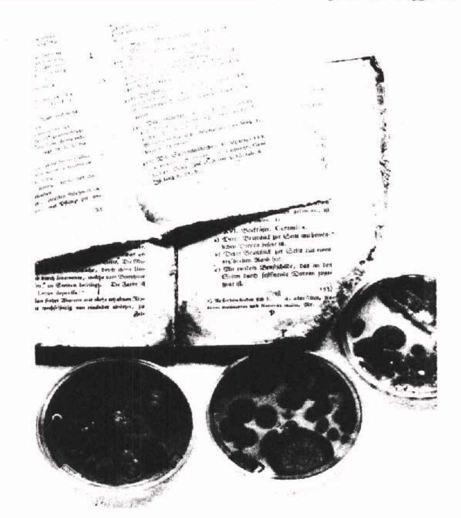
شكل (١٤) : الحوامل الكونيدية وكونيديات بعض الفطريات المسببة لتلف الكتب.



شكل (١٥) : الحوامل الكونيدية وكونيديات الفطر ***Aspergillus*** والفطر ***Penicillium*** .



شكل (١٦) : نموذج لأحد المراجع التاريخية، بعد أن تعرض لغزو الفطريات المحللة للسيليلوز وحبر الطباعة.



شكل (١٧) : عزل بعض الفطريات المسئولة عن تحلل السيليلوز وحبر الطباعة.

وهناك فطريات أخرى تتميز بإنتاجها مواد ملونة (صبغاتٍ pigmented products) ناتجة عن التمثيل الغذائى الثانوى لها؛ حيث تعمل على تبقع الورق بألوانٍ صفراء أو بنيةٍ، وقد تسبب هذه المواد المفرزة تحليل حبر الطباعة وإزالته.

وقد يتآكل سطح الورق بعد فترةٍ قصيرةٍ من الهجوم الفطرى، وتصبح مثل هذه الأوراق هشةً سهلة التقصف. كما يتكاثف النمو الفطرى تحت ظروف الرطوبة العالية؛ حيث تظهر جراثيم هذه الفطريات بألوانها المختلفة. وقد يعمد البعض إلى إزالة هذه الجراثيم ذات المظهر الترابى الجاف من على الكتب التى أهملت لفترةٍ، ولكن يجب مراعاة عدم استنشاق هذه الجراثيم لخطورتها على الصحة العامة.

ومن ناحية أخرى وجد أن بعض الفطريات يمكنها النمو على العدسات الزجاجية للنظارات، متغذيةً على العناصر الغذائية المتخلفة على العدسات نتيجة بصمات الأصابع، أو تلك الموجودة فى الجو. وتنتشر هذه المشكلة فى المناطق الاستوائية؛ حيث ارتفاع

درجات الحرارة والرطوبة الجوية، بالإضافة إلى توافر المواد العضوية العالقة فى الجو التى تنتج عن كثافة الغطاء النباتى فى مثل هذه المناطق.

وينتج عن نمو الفطريات على العدسات الزجاجية حدوث نقر على سطح الزجاج؛ مما يقلل من جودة العدسات. ولتجنب مثل هذه المشكلة، فإنه يجب حفظ العدسات الزجاجية فى الأجهزة الحساسة الغالية الثمن -كالمجاهر، والأجهزة الضوئية الأخرى- فى مكانٍ مغلقٍ جافٍ بعيداً عن متناول الفطريات، كما يمكن اتباع التنظيف الدورى للعدسات؛ للتخلص من جراثيم هذه الفطريات الضارة.

وتتعرض الأجهزة الكهربائية لأخطارٍ مشابهةٍ ناتجةٍ عن فعل الفطريات، وخاصةً فى المناطق الاستوائية؛ حيث تجد الفطريات ماتحتاج إليه من رطوبةٍ عاليةٍ وحرارةٍ مرتفعةٍ ومواد غذائية تكفى لنشاطها؛ محللةً المواد العازلة فى تلك الأجهزة الكهربائية؛ مسببةً مشاكل لاحصر لها.

ويتعرض الوقود الهيدروكربونى وزيوت التشحيم أيضاً لهجوم الفطريات. ومن أكثر الأمثلة المعروفة فى هذا المجال تلوث وقود الطائرات بالفطر ***Cladosporium resinae*** ؛ حيث ينمو هذا الفطر على خزانات الوقود؛ مستفيداً بأبخرة الوقود والماء الموجودة عليه؛ مما ينتج عنه زيادة النمو الميسليومى والجراثيم التى قد تعمل على انسداد أنابيب الوقود والمرشحات. كما يسبب نمو هذا الفطر تكوين أحماضٍ عضويةٍ تسبب خسائر إضافية لأجهزة الملاحة الجوية فى هذه الطائرات.

ومن الفطريات الأخرى الملوثة لوقود الطائرات فطر الكيروسين **the kerosene fungus *(Hormoconis resinae)*** الذى يسبب خطورة بالغة للطائرات النفاثة فى المناطق الاستوائية؛ نظراً لنموه على وقود هذه الطائرات. ويقطن هذا الفطر التربة ـ عادة ـ كأحد الفطريات المترممة، إلا أن جراثيمه تجد طريقها إلى الهواء بفعل حركة الرياح، وبذلك تصل الى وقود الطائرات.

وهناك نحو ثلاثين فطراً -على الأقل- تم عزلها من وقود الطائرات؛ حيث تنمو

هيفاتها محللةً مكونات الوقود، ومكونةً جراثيم تسبب -هى وكتل الهيفات- انسداداً لأنابيب ومرشحات الوقود، مما يؤثر على كفاءة طيران هذه الطائرات.

ولم تنج أحبار الطباعة من هجوم الفطريات، سواء عند تخزينها فى عبواتها الأصلية، أم عند استخدامها. ويؤدى نمو الفطريات فى عبوات أحبار الطباعة إلى فقدان لونها، بينما يؤدى نمو هذه الفطريات على ماكينات الطباعة إلى عدم تجانس توزيع الحبر وظهور بقعٍ سوداءٍ. ومن أهم هذه الفطريات ***Aureobasidium pullulans***، وبعض الأنواع التابعة للجنس ***Cladosporium***.

وتهاجم الفطريات الجلود، والكاوتشوك، والمواد اللاصقة، والعقاقير الطبية ومساحيق التجميل، وأى منتجٍ آخر يتم حفظه تحت ظروفٍ تُشجع النمو الفطرى، حتى أن البلاستيك فشلَ فى أن يكون مقاوماً لفعل الفطريات، اللهم فيما عدا مركبات البولى يوريثانات **polyurethanes**، وهى مركبات معقدة مازالت تُبْدى مقاومةً للتحلل الفطرى.

ومن ناحيةٍ أخرى، فإن المواد الملدنة **plasticisers** -التى تضاف بغرض زيادة لدانة المركبات- قابلة لهجوم الفطريات لدرجةٍ ما. ومعظم هذه المواد عبارة عن أستراتٍ لأحماضٍ دهنيةٍ **fatty acid esters** ذات سلاسل مختلفة الطول، ويتم تحليلها عن طريق إفراز الفطر لإنزيمات تحليل رابطة الأستر **esterases** وتحليل الدهون **lipases**.

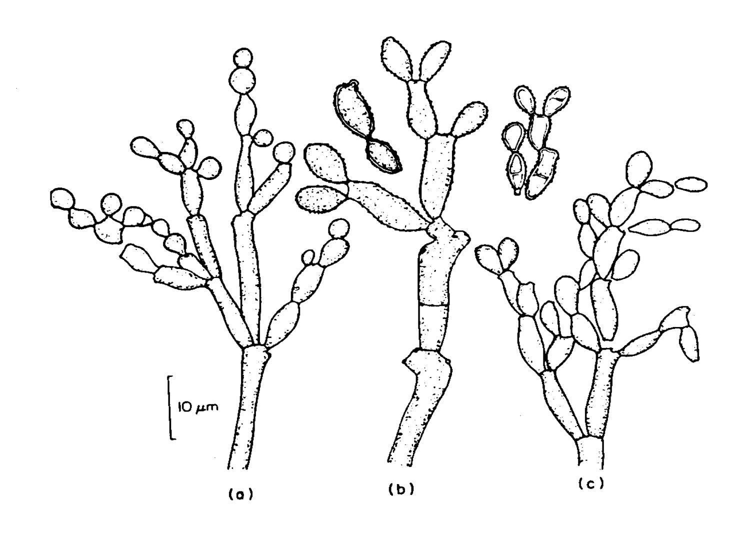
فعلى سبيل المثال، يمكن للأنواع التابعة للجنس ***Fusarium*** تحرير مادة **butan-1-ol** من مادة **dibutyl phthalate**، ثم تنمو هيفات الفطر على أسترات البيوتيل **butyl esters** للأحماض الدهنية سيباسيك **sebacic acid** وأوليك **oleic acid**.

وتتحدد سهولة تحليل هذه المواد بفعل الفطر على طول السلسلة؛ حيث يتحدد أى من الكحولات سوف يتحلل. وبصفةٍ عامةٍ، فإن هذا التحليل يقل بزيادة طول السلسلة.

وتهاجم الأنواع المختلفة للجنس ***Penicillium*** الأسترات المعقدة **polyesters**، كما أن هناك فطرياتٍ أخرى تسبب انخفاضاً فى الوزن، وتقلل من قوة تحمل مركب البولى يوريثان **polyurethane**.

ولقد سبب التلوث الفطرى مشاكل لاحصر لها للأجهزة الكهربائية خلال السنوات الماضية؛ نظراً لأن بعض المواد البلاستيكية -مثل مادة الإيبوكسى **epoxy** والبولى إيثيلين **polyethylene** والبولى بروبيولين **polypropylene**- تمثل مكوناتٍ لأجزاءٍ حساسةٍ داخل مثل هذه الأجهزة الكهربائية، وهى تتعرض للتحلل بفعل الفطريات.

ويمكن عزل أنواع مختلفةٍ من الفطريات من على سطح الدوائر الكهربائية المطبوعة **printed circuits** ؛ ومثال ذلك: ***Cladosporium cladosporioides*** و ***Fusarium solani*** و ***Chaetomium globosum*** ، بالإضافة إلى أنواعٍ من الجنس ***Penicillium*** .



شكل (١٨) : الحوامل الكونيدية لبعض الأنواع التابعة للجنس ***Cladosporium***.

(a): C . sphaerospermum.

(b): C . herbarum.

(c): C . cladosporioides.

كما تُهَاجَم الأسلاك الكهربائية بواسطة الفطريات، وخاصة تلك الأسلاك المدفونة تحت سطح الأرض.. وكذلك رقائق السيليكون العالية الصقل **highly polished silicon wafers** يمكن أن تنمو عليها أنواع مختلفة من الفطريات.

وهناك مثال آخر -ربما يكون تاريخياً- للدور المهم الذى تلعبه الفطريات فى التحليل الحيوى للمواد العضوية، والذى أشارت إليه الأبحاث فى ذلك الوقت **(Heron et al., 1932)** تحت اسم فطر الزرنيخ فى مدنية **(arsenic fungus of Gosio) Gosio** ؛ فمن المعروف أن بعض الفطريات -وخاصة الفطر ***Scopulariopsis brevicoule*** -يمكنها إنتاج مواد متطايرة من مركبات الزرنيخ، ومنها مشتقات الميثيل -مثل غاز ثنائى ميثيل الزرنيخ **dimethyl arsine** - الذى يتميز برائحته التى تشبه رائحة الثوم.

وتسبب قدرة بعض الفطريات على تكوين مواد ميثيلية من الزرنيخ إلى موت الكثير من الضحايا خلال القرن الماضى؛ حيث استعملت مركبات الزرنيخ -عادةً- فى تلوين ورق الحائط. وفى الظروف الرطبة ينمو الفطر على هذا الورق؛ محللاً الصبغات التى يدخل الزرنيخ فى تركيبها؛ فتتحرر أبخرة الزرنيخ السامة، وتسبب الوفاة.



الباب الخامس

التسمية الثنائية وأساسيات التصنيف



التسمية الثنائية وأساسيات التصنيف

١ - التسمية الثنائية للفطريات Nomenclature :

لم تتبع طريقة محددة لتسمية الفطريات مع بداية عهد دراسة هذه الأحياء الدقيقة؛ لذا كان المتبع أن يوصف الفطر المراد تحديده تبعاً لشكله وطبيعة نموه فى البيئة التى ينتشر فيها.

فعلى سبيل المثال، كان يوصف فطر عيش الغراب العادى **common mushroom** بأنه: «الفطر النامى فى الحقول، ذو القبعة البيضاء اللون، وسطحها السفلى المائل للحمرة!» وهكذا كانت الطريقة المتبعة لتسمية الكائنات الحية الأخرى؛ بما تحمله من صفاتٍ ظاهرية قد تكون متشابهةً بدرجاتٍ متفاوتةٍ مع أحياءٍ أخرى عديدةٍ.

ثم تطور الأمر -بعد ذلك- بدرجةٍ كبيرةٍ، ليس فى علم الفطريات فقط **Mycology**، ولكن فى جميع علوم الأحياء **Biology**؛ وذلك نتيجةً لما قام به عالم النبات السويدى العظيم **Carlus Linnaeus** فى كتابه «أصل الأنواع **Species Plantarum**»؛ الذى نشره عام ١٧٥٣ باتّباعه طريقة التسمية الثنائية اللاتينية **Latin Binomial system of nomenclature**.

وفى هذا النظام -الذى سرعان ماأصبح عالمى الانتشار- أعطى «لينيس» كلَّ كائنٍ حيٍّ اسماً ثنائياً يتكون من مقطعين؛ الأول يدل على اسم الجنس **genus**، ويبدأ بحرفٍ أبجديٍّ كبيرٍ، والثانى اسم صفة متخصصة **specific epithet** تدل على النوع **species**، ويبدأ بحرفٍ أبجديٍ صغيرٍ.



وتضم القواعد المعمول بها حالياً ستة أساسيات وخمساً وسبعين قاعدةً، تُقَسَّم كل منها إلى ستة أجزاء، تضم التوصيات الخاصة بها، بالإضافة إلى ثلاثة ملاحق ودليلٍ لتحديد الأنماط الفطرية **fungal types**.

وهذه التوصيات ـ التى سبقت الإشارة إليها، والتى تشمل قواعد تسمية الفطريات ـ هى خلاصة مجهود كثيرٍ من علماء الفطريات لسنواتٍ طويلةٍ، ومازالت هناك بنود عرضة للتعديل والتنقيح.

وبالإضافة إلى هذه التوصيات، هناك كثير من البحوث الجيدة والمراجع القيمة؛ التى أنارت الطريق للوصول إلى مانعرفه الآن من تسمية الأحياء وتصنيفها؛ مثال ذلك ماقدمه العالم **Bisby (1953)** الذى ألف كتاباً بعنوان: **An Introduction to the Taxonomy and Nomenclature of fungi**، والعالم **Ainsworth (1973)** الذى نشر بحثاً جيداً بعنوان **(Fungal Nomenclature)**، والعالم **Hawksworth (1974)** الذى ألف كتاباً بعنوان **(Mycologist Handbook)**، ثم ماقدمه العالم **Jeffrey (1977)** بعنوان **(Biological Nomenclature)**.

وفى النهاية، يجب أن يؤخذ فى الحسبان أن مايقدمه علماء الفطريات والباحثون العاملين فى هذا المجال لوضع الفطريات فى نسقٍ تصنيفيٍ يجابهه الكثير من الصعوباتِ، فهذه المحاولات –على أية حال– من ابتكار الإنسان؛ ومن ثم فهى ليست واقعية، وسوف تُظهر طرزاً وسطيةً للفطريات؛ نتيجة الطفرات والتهجين الطبيعى الذى يتم بين السلالات.

ولعل ذلك ماعبر عنه عالم الفطريات الفرنسى **Hochreutiner** عام ١٩٢٩؛ حيث ذكر أنه ليست هناك فى الطبيعة عائلات **Families** ولا أجناس **Genera** ولا أنواع **Species**، ولكن هناك فقط أفراد **individuals** يشبه بعضها بعضاً إلى حدّ ما.

٣- تصنيف الفطريات:

عند دراسة أيٍ من الأحياء الدقيقة، من الأهمية بمكان تعريف الكائن الحى، وتحديد اسم خاصٍّ به، ثم تصنيف هذا الكائن الحى مع من يشابهه فى الشكل والمضمون. ولقد استطاع الإنسان ـ بدرجاتٍ متفاوتةٍ من النجاح ـ أن يتعرف على ماحوله من أحياءٍ، منذ ذلك الوقت الذى تعلَّم فيه أى من النباتات سام؟ وأى من الحيوانات أطيب مذاقاً؟.

وهكذا الحال فى الفطريات الصناعية، فإنه من الأهمية بمكانٍ التعرُّف على نوع الفطر المتداخل فى عمليةٍ حيويةٍ معينةٍ، فإذا ماتلوث التحضير بفطرٍ آخر غير مرغوبٍ خلال مراحل التصنيع فسد المنتج النهائى.

وعادةً مايكون من الضرورى تعريف الكائن الحى المستعمل فى إعداد وتجهيز مادةٍ ما؛ للحصول على منتجٍ نهائيٍّ مرغوبٍ فيه؛ بحيث يمكن تكرار الحصول على نفس المنتج عدة مراتٍ؛ وذلك باستعمال نفس الكائن، ونفس التقنية والمواد الخام.

ويطلق على فرع علم الأحياء الذى يهتم بدراسة ترتيب الكائنات الحية المتناظرة فى مجموعاتٍ «علم التقسيم Taxonomy». ويهتم هذا العلم بدراسة الأحياء وصفاتها، وتسميتها تسميةً ثنائيةً، ثم تصنيفها فى المجاميع الخاصة بها؛ والتى تضم أفراداً متشابهةً.

ونظراً للصعوبات الجمة التى قابلت العلماء والباحثين -مع بداية هذا العلم- سواء فى الفحص المجهرى، أم التسجيل الدقيق للصفات، أم فى الاتصال بين هؤلاء العلماء والباحثين بعضهم وبعض، فإن ذلك أدى إلى اقتراح عديدٍ من التصورات للوضع التقسيمى للأحياء، وإلى إطلاق أسماءٍ للأحياء كانت متداخلةً بطريقةٍ يصعب تصنيفها فى مجاميع.

zygospores؛ وبذلك شملت هذه الطائفة (Phycomycetes) مجموعاتٍ متباينةً من الفطريات.

وتبعاً للتصنيف الذى وضعه Ainsworth (1966)، وُضعت الفطريات ذات الميسليوم المقسم فى تحت أقسام Subdivisions الفطريات الأسكية Ascomycotina والبازيدية Basidiomycotina، بالإضافة إلى الفطريات الناقصة Deuteromycotina.

وواضح أن التصنيف السابق كان معتمداً على طريقة إنتاج الفطر لجراثيمه الجنسية فى الأطوار الكاملة perfect states (telemorph)، بينما وضعت الفطريات التى لم يُشاهَد لها حتى الآن أطوار كاملة تكوّن جراثيم جنسية فى تحت قسم الفطريات الناقصة.

وتعتبر الفطريات السوطية Mastigomycotina أكثر الفطريات الحقيقية بساطةً فى تركيبها، بينما تبلغ الفطريات ذروة رقيها فى طائفة الفطريات البازيدية، وعلى رأسها فطريات عيش الغراب؛ بما تكونه من أجسامٍ ثمريةٍ لحميةٍ كبيرة الحجم.

وتتميز الفطريات السوطية بتكوين هيفاتٍ غير مقسمةٍ aseptate hypae تسبح فيها الأنوية فى السيتوبلازم فيما يسمى «المدمج الخلوى coenocytic mycelium»؛ وهذا يجعل من السهولة بمكان التعرف على مثل هذه الفطريات وتمييزها عن غيرها من هيفات الفطريات الأخرى المقسمة بحدر عرضيةٍ.

ومعظم فطريات العفن المائية متجانسة الثالوس الفطرى homothallic thallus؛ حيث تحمل جاميطاتها المذكرة والمؤنثة على نفس الميسليوم الواحد الناتج من إنبات جرثومةٍ متحركةٍ واحدةٍ.

وحيث إن هذه الجاميطات يمكنها إتمام الإخصاب وتكوين الطور الجنسى؛ لذا يطلق على مثل هذا الثالوس الفطرى المتجانس اسم «وحيد المسكن monoecious».

ويحتوى الطور الجنسى المؤنث ـ الذى يطلق عليه اسم أووجونة oogonium —على عديد من الأنوية الأحادية المجموعة الصبغية، والتى تكوّن بعد ذلك ٥–١٠ بويضات وحيدة النواة يطلق عليها اسم «oospheres».

ويتم إخصاب هذه البويضات عن طريق الأنوية الذكرية، التى تدخل البويضة من خلال أنبوب إخصاب **fertilisation tube** يتكون عن طريق عضو التذكير الذى يطلق عليه اسم «أنثريدة **antheridium**».

وتحاط كل بويضةٍ مخصبةٍ بجدارٍ سميكٍ؛ مكونةً جرثومةً بيضيةً **oospore**؛ حيث تبقى مثل هذه الجراثيم ساكنةً حتى تتحسن الظروف المحيطة بها. وعند إنبات الجرثومة البيضية، فإنها تكوّن ميسليوماً أوليّاً **promycelium** يحمل كيساً أسبورانجيّاً.

وعلى العكس مما سبق، فإننا نجد أن معظم أنواع الفطريات الزيجية التابعة للجنس ***Mucor*** ذات ثالوس متباين **heterothallic thallus**؛ حيث تحمل جاميطاتها على نوعين من الميسليوم، تنشأ كل منهما من إنبات جرثومةٍ أسبورانجيةٍ وحيدةٍ؛ لذا توصف مثل هذه الفطريات بأنها «ثنائية المسكن **dioecious**».

وحيث إنه لايمكن التمييز بين نوعى الميسليوم الفطرى اللذين سبقت الإشارة إليهما؛ إذ يتشابهان فى تركيبهما الخارجى؛ لذا فإننا نشير إليهما برمزى (+)، (-)؛ للدلالة على اختلافهما من الناحية الجنسية. وفى أعقاب عملية الإخصاب، تتجاور الأنوية الأحادية ذات المصادر المختلفة (+ ، −)، ثم تتحدّ كل نواتين معاً؛ لتتكون أنوية ثنائية المجموعة الصبغية داخل الجرثومة الزيجية.

وتنبت الجرثومة الزيجية **zygospore** مكونةً ميسليوماً أوليّاً؛ يحمل كيساً أسبورانجيّاً؛ يحتوى على نوعٍ واحدٍ من الجراثيم الأسبورانجية، إما (+) أم (−)، ولكنه لايحمل النوعين معاً.

وتمثل الفطريات الأسكية **Ascomycotina** أكبر طائفةٍ من الفطريات التى تضم الخمائر، بالإضافة إلى عديدٍ من الفطريات الهيفية المختلفة؛ مثال ذلك: الفطر ***Clavi-ceps purpurea*** الذى يصيب بعض المحاصيل النجيلية مسبباً لها مرض الأرجوت **er-got**، بالإضافة إلى فطريات المورشيلا **morels** ذات القيمة الغذائية العالية.



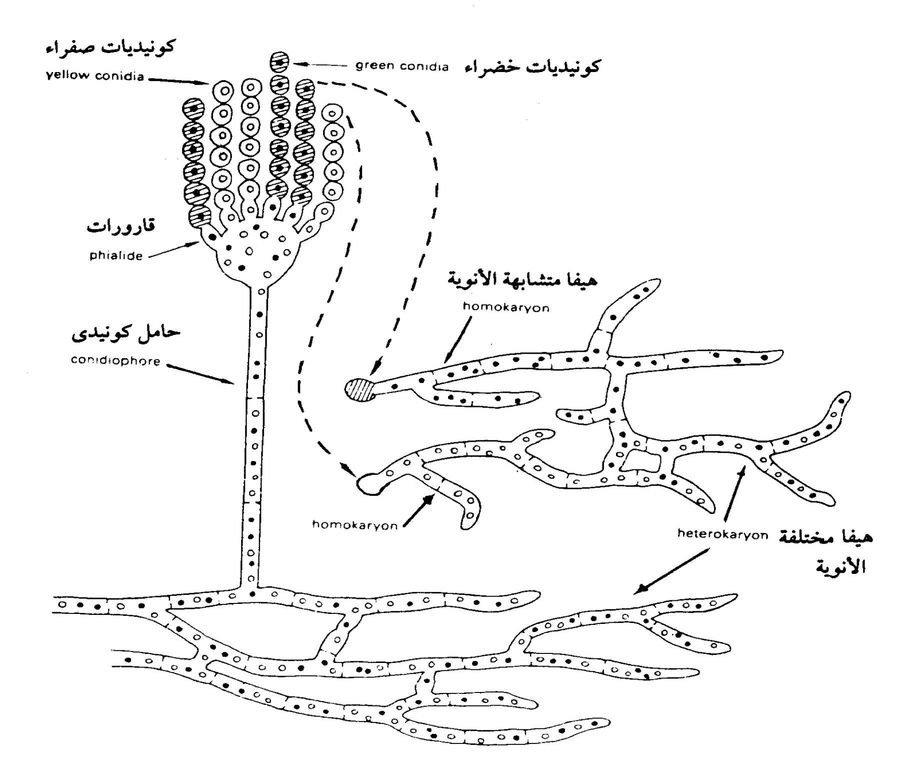
هذه الأمراض، بينما تشاركه أنواع أخرى؛ مثل ***A.terreus***، و ***A.flavus***، و***A.niger*** بدرجات متفاوتة.

فعلى سبيل المثال، يصيب الفطر ***A.flavus*** الرئة، فتظهر أعراض مرضية لا تتشابه مع أعراض مرض السل، وعلى الرغم من ذلك، فلقد شُخصت مثل هذه الأعراض فيما مضى ـ بطريق الخطأ ـ على أنها لمرض السل، ووصف لعلاجها مضادات حيوية مضادة للبكتيريا؛ مما أدى إلى سوء الحالة الصحية للمرضى.

وتنتج الأنواع التابعة للجنس ***Aspergillus*** عديداً من الإنزيمات الخارجية، بعضها يتم استغلاله جيداً فى التقنية الحيوية الصناعية؛ فمثلاً يعتبر الفطر ***A.niger*** مهمّاً فى إنتاج حمض الستريك **citric acid** وحمض الجلوكونيك **gluconic acid** اللذين يستخدمان فى الصناعات الغذائية، بينما يستخدم الفطر ***A.wentii*** فى اليابان فى إنتاج بعض الأغذية المتخمرة.

وكثيراً مانصادف الأطوار اللاجنسية للفطر ***Aspergillus*** فى معظم الصناعات المعتمدة على التقنية الحيوية للفطريات؛ حيث يتميز هذا الجنس بإنتاجه الوفير من الكونيديات المتكونة فى سلاسل على انتفاخ يعلو قمة الحامل الكونيدى؛ يطلق عليه اسم «الفقاعة **vesicle**»؛ حيث تتكون هذه الكونيديات من خليةٍ مولدةٍ للكونيديات **conidiogenous cell** ذات شكلٍ قارورىّ يطلق عليه اسم «قارورة **phialide**» (شكل ٢٠).

ويتم التكاثر الجنسى فى الفطر ***Aspergillus*** عن طريق تكوين جراثيم أسكية داخل أكياسٍ أسكيةٍ توجد داخل جسمٍ ثمريٍ أسكيٍّ مغلق **cleistothecium**، إلا أن قليلاً من الأنواع التابعة لهذا الجنس هى التى شوهد لها مثل هذا التكاثر الجنسى، بينما فقد معظمها قدرته على التكاثر الجنسى. ويطلق على الأنواع المكونة للطور الأسكى (الجنسى) اسم «الجنس ***Eurotium***».



شكل (٢٠) : الفطر *Aspergillus*. رسم يوضح الميسليوم المتباين الأنوية heterokaryotic mycelium الذى تحتوى كل خلية فيه على أنوية مختلفة. وتظهر الكونيديات الوحيدة الخلية ذات نواة واحدة، والتى تنتج عند إنباتها ميسليوماً أوليا، يتحد جسديا مع نظير له يختلف عنه فى نوع النواة ليكون ميسليوما ثانويا عديد الأنوية المختلفة.



وتحمل الحوامل الكونيدية ذات التفرعات الغزيرة لهذا الجنس قارورات **phidalides**؛ سواء فردية، أم فى مجموعات.. ومن هذه القارورات تتكون كونيديات رطبة لزجة. وتعتبر الأنواع التابعة لجنس ***Trichoderma*** بصفةٍ عامةٍ ذات قدرةٍ تضاديةٍ لنمو غيرها من الفطريات الأخرى؛ ومنها بعض الفطريات الممرضة للنبات؛ لذا يعتبر هذا الجنس هامًا فى المكافحة الحيوية لهذه الأمراض.

وبالاضافة إلي ماسبق، تتميز الأنواع التابعة لهذا الجنس بقدرتها العالية في انتاج الانزيمات المحللة للسيليلوز، لذلك تستخدم في انتاج هذه الانزيمات تجاريًا، في تحويل المخلفات السيليلوزية إلي سكر الجلوكوز.

ب ـ فطر العفن الأبيض (*Phanerochaete chrysosporium*):

هو أحد الفطريات البازيدية المستخدمة فى بعض التطبيقات الحيوية الهامة؛ حيث يعتبر أحد فطريات العفن الأبيض **white rot fungi** المحللة للخشب. ويفرز هذا الفطر إنزيماتٍ محللةً للجنين غير متخصصةٍ **non-specific ligninases**؛ يمكن استخدامها فى تحليل المواد العضوية الملوثة للبيئة؛ سواء فى السوائل، أم فى التربة.

جـ ـ فطريات الخمائر Yeasts:

تلعب الخمائر دورًا أساسيًا فى التقنية الحيوية (جدول ٤). وعلى الرغم من أن بعض العاملين فى مجال الأحياء الدقيقة يضعون الخمائر فى مجموعةٍ مستقلةٍ عن الفطريات، إلا أن الخمائر ـ فى الحقيقة ـ تعتبر فطرياتٍ أسكيةً فى مجملها، وإن كان بعضها بازيديًا. ولبعض أنواع الخمائر مرحلة تكوّن خلالها هيفاتٍ، أو تظهر مايمكن أن نطلق عليه «التشكل الثنائى خميرة/فطر **yeast-mould dimorphism**»؛ وهذا يوضح قدرتها على تغيير شكل نمواتها، وخاصة تحت ظروف اختلاف التغذية.

والشكل التقليدى للخميرة أنها وحيدة الخلية، ذات نموٍّ لزج عند نموها على بيئةٍ غذائيةٍ فى المعمل، مشابهةً فى ذلك شكل نموات العشائر البكتيرية. إلا أن خلية

الخميرة أكبر فى حجمها من خلية البكتيريا، كما أن الخميرة تتميز بتكاثرها لا جنسياً بالتبرعم، بينما تتكاثر الخميرة جنسياً - عادة - بتكوين أكياسٍ أسكيةٍ بسيطةٍ عاريةٍ يحتوى كل كيسٍ منها على أربع جراثيم أسكيةٍ، وأحياناً أكثر من ذلك.

وتستعمل الأنواع التابعة للجنس *Saccharomyces* فى صناعة الأغذية على نطاقٍ واسعٍ؛ وذلك فى صناعة الخبز، وأيضاً فى إنتاج المشروبات الكحولية.. كما تستعمل الخمائر كمصدرٍ للبروتين الميكروبى **single-cell protein**، وكذلك لإنتاج الكحول للأغراض الصناعية. ولقد أدى التطور الحديث فى التقنية الجزيئية الحيوية للخمائر إلى زيادة استخدام هذه الخمائر فى عديدٍ من الصناعات الحيوية الهامة للإنسان.

د - فطريات عيش الغراب :

تستخدم عديد من الأنواع التابعة للجنس *Agaricus* فى إنتاج ثمار فطر عيش الغراب المأكولة ذات المحتوى العالى من البروتين. ويعتبر هذا الفطر من الفطريات البازيدية المحللة للسيليلوز؛ حيث ينتشر فى الطبيعة على المواد العضوية المتحللة فى أرضية الغابات والمناطق العشبية.

وتنمو هيفات هذا الفطر محللةً المواد السيليلوزية؛ مثل أوراق الأشجار المتساقطة، والأفرع والأغصان الميتة؛ وذلك على هيئة شبكةٍ هيفيةٍ تنمو على سطح التربة تحت هذه المواد العضوية؛ محللةً إياها إلى مادةٍ دباليةٍ إسفنجية القوام.

وتعتبر الأنواع التجارية من فطر عيش الغراب العادى التابعة للجنس *Agaricus* من مصادر الغذاء البروتينى المألوفة لكثيرٍ من شعوب دول أوربا، وخاصة النوع *A. bisporus*.

وتحمل ثمرة عيش الغراب الجراثيم الجنسية (البازيدية **basidiospores**) على تراكيب خاصةٍ توجد أسفل القبعة، يطلق عليها اسم «الخياشيم **gills**». وتتراص على هذه الخياشيم حوامل بازيدية **basidia** تحمل هذه الجراثيم الجنسية، التى تتحرر مندفعةً مع تيارات الهواء من حولها؛ مما يساعد على انتشارها إلى أماكن أخرى بعيدةٍ.

جدول (٤) : الاستخدامات الصناعية للخمائر .

نوع الخميرة	استخدامها الصناعى
١ـ *Saccharomyces cerevisiae*	صناعة الخبز ـ البيرة ـ الوقود ـ الكحول ـ المشروبات الكحولية
٢ـ *Saccharomyces uvarum*	البيرة ـ إنتاج إنزيم **melibiase**
٣ـ *Ashbya gossypii* *Eremothecium ashbyii*	إنتاج الريبوفلافين **Riboflavin**
٤ـ *Rhodotorula*	إنتاج الكاروتين **Carotene**
٥ـ *Hansenula , Pichia*	إنتاج البروتين الميكروبى من الميثانول
٦ـ *Candida , Cryptococcus*	إنتاج البروتين الميكروبى
Hansenula , Lipomyces *Rhodotorula*	إنتاج إنزيم **Lipase**
٧ـ *Yarrowia lipolytica*	إنتاج حمض الستريك
٨ـ *Hansenula , Kloeckera* *Pichia , Rhodotorula*	انتاج المواد المكونة للستيرولات
٩ـ *Saccharomycopsis ,* *Aureobasidium*	إنتاج حمض الجلوكونيك **(D - gluconic acid)**
١٠ـ *Kluyveromyces fragilis*	إنتاج إنزيم **invertase** وإنزيم **lactase**
١١ـ *Saccharomyces diastaticus*	إنتاج البيرة وإنتاج إنزيم **glucoamylase**
١٢ـ *Yarrowia lipolytica* *Torulopsis bombicola*	إنتاج الجليكوليبيدات **glycolipids** وإنتاج مادة **Biosurfactant (Liposan)** المخفضة للتوتر السطحي.

هـ- فطر الأرجوت *Claviceps purpurea*:

يتبع هذا الفطر طائفة الفطريات الأسكية **Ascomycotina**؛ حيث يتميز بتكوينه أجساماً حجريةً **sclerotia** يطلق عليها اسم إرجوتات «**ergot**»، والتى يستخلص منها مواد قلويدية **alkaloids** عظيمة الفائدة العلاجية.

ففى خلال فصل الربيع، تنبت هذه الأجسام الحجرية -التى قضت فترة الشتاء فى التربة؛ حيث عملت البرودة على تنشيطها ـ مكونةً حشياتٍ ثمريةً معنقةً تنغمد فيها أجسام ثمرية أسكية دورقية الشكل **perithecia**. ويحتوى كل جسمٍ ثمريٍّ أسكيٍّ منها على حوالى ١٠٠ كيسٍ أسكيٍّ، يقذف كل منها ثمانى جراثيم أسكيةً؛ تندفع فى الهواء لتصطدم بأوراق الحشائش والنباتات النجيلية من حولها؛ فى الوقت الذى تكون فيه أزهارها قد بدأت لتوِّها فى التفتح.

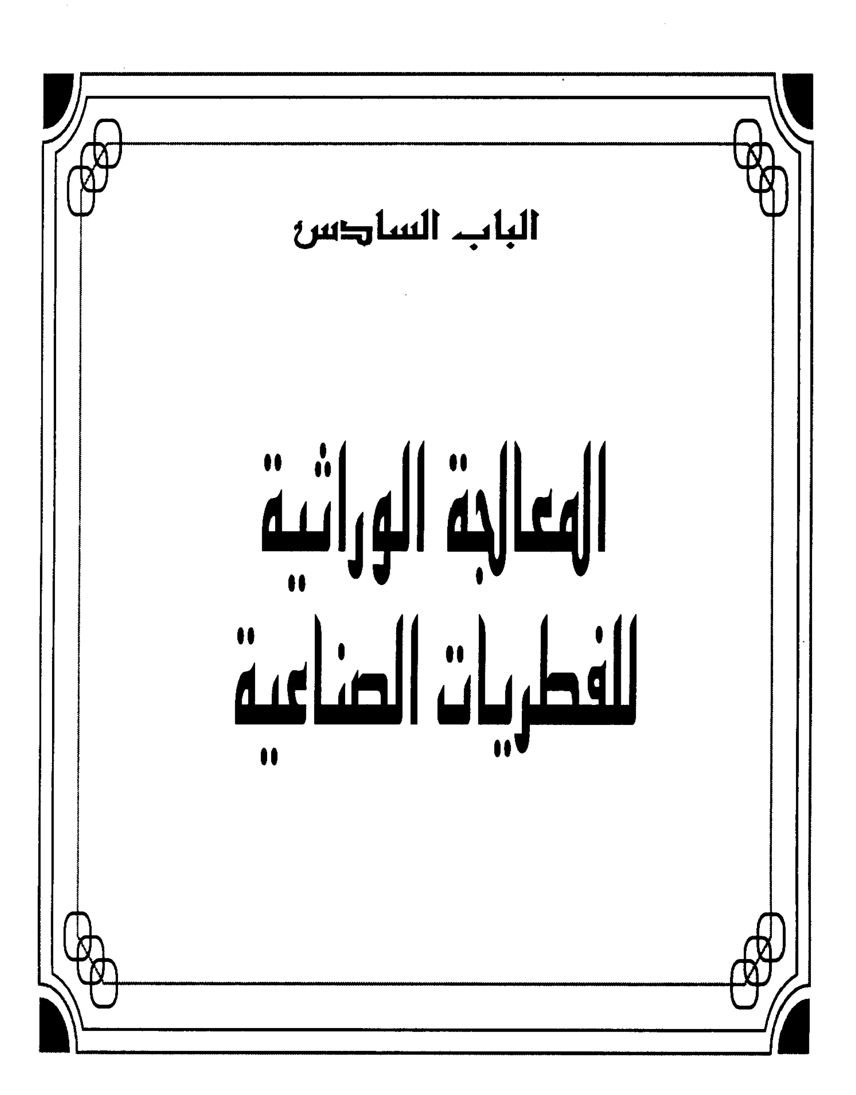
وتحدث العدوى عند إنبات هذه الجراثيم الأسكية على النباتات النجيلية؛ حيث تنمو هيفات الفطر بسرعةٍ مكونةً غلالةً سميكةً من الميسليوم؛ الذى يكوِّن بدوره كتلاً من حوامل كونيدية **conidiophores** تنغمد فى محلولٍ رحيقيٍ لزجٍ حلو المذاق.

ويجذب هذا المحلولُ السكرى الحشرات إليه؛ حيث تجد فيه غذاءً شهيًا ميسوراً دون أن تدرك أنها تُقَدِّم -فى المقابل- خدمةً عظيمةً للفطر الممرض؛ وذلك بنقل كونيدياته إلى الأزهار المتفتحة. وعندما تصل هذه الكونيديات إلى أزهار النباتات، فإنها تنبت وتصيب مبايضها؛ حيث يتحول مبيض الأزهار المصابة إلى جسمٍ حجريٍّ أسود اللون، يطلق عليه اسم «الأرجوت **Ergot**».

وتتكون المواد القلويدية **alkaloids** فى هذا الجسم الحجرى، وعندما يتغذى عليه إنسان أو حيوان، فإنه يسبب له تسمماً يعرف باسم «التسمم الإرجوتى **ergotism**». ولقد انتشر هذا التسمم فى العصور الوسطى، وعرف باسم «حمى القديس أنطونيو **St.**

«Anthony's Fire»؛ حيث أدى إلى وفاة من يتناول دقيقًا أو حبوباً ملوثة بهذه الأجسام الحجرية السامة.

ولقد أبرز البحث العلمي الحديثُ الأهميةَ الطبية لهذه الأجسام الحجرية ودورها فى تخفيف الآم البشرية، وسوف نشير إلى ذلك بالتفصيل فى الباب الخاص بدور الفطريات فى التقنية الحيوية الطبية.



الباب السادس

المعالجة الوراثية للفطريات الصناعية



المعالجة الوراثية للفطريات الصناعية

مقدمة :

حتى وقتٍ قريبٍ كانت هناك هوة واسعة بين الدراسات العلمية الخاصة بالأبحاث الوراثية فى الفطريات وبين النواحى التطبيقية فى الصناعات التى تستخدم مثل هذه الفطريات؛ فلقد اختير الفطر *Neurospora crassa* والفطر *Aspergillus nidulans* كنموذجين ملائمين للدراسات الجينية **genetic studies**، فى الوقت الذى يبدو فيه أن هذين الفطرين ليست لهما أهمية صناعية تذكر.

وفى نهاية عام ١٩٧٤، اعتمد لأول مرة على إنتاج الطفرات كوسيلةٍ فعالة لتحسين السلالات الفطرية؛ حيث تبع ذلك فحص هذه السلالات الناتجة عن الطفرات واختيار أفضلها. وعلى الرغم من أن مثل هذا الأسلوب كان بطيئًا ومكلفًا ويتم فى معامل متخصصةٍ، إلا أنه حقق نجاحًا فى تحسين إنتاج المضاد الحيوى «بنسيلين» لتلبية الطلبات المتزايدة عليه.

فعلى سبيل المثال، فإن السلالة الأصلية للفطر *Penicillium notatum* التى عزلها عالم الأحياء الدقيقة الشهير ألكسندر فلمنج **Fleming**، كانت تنتج وحدتين من المضاد الحيوى «بنسيلين» فى كل ملليلترٍ من البيئة الغذائية التى ينمو فيها الفطر؛ وهذا يعادل حوالى ٠,٦ ميكروجرام بنسلين. وعلى العكس من ذلك، فإن العزلات الفطرية الأصلية التى نشأ منها جميع السلالات الفطرية المستخدمة حاليًا فى الصناعة، والتى تم عزلها من ثمار كنتالوب مصابة بالعفن فى معامل هيئة الزراعة الأمريكية **USDA**؛ وهى للفطر *Penicillium chrysogenum* **NRRL 1951**، كانت قادرة على إنتاج ١٠٠ وحدةٍ من المضاد الحيوى «بنسيلين» فى كل ملليلترٍ من البيئة الغذائية؛

وهذا يفوق عزلة فلمنج السابقة خمسين مرةٍ فى قدرتها على إنتاج هذا المضاد الحيوى.

ولقد أمكن ـ حديثاً ـ الحصول على سلالاتٍ من هذا الفطر يمكنها إنتاج ٥٠ألف وحدةٍ من البنسيلين من كل ملليلترٍ من البيئة الغذائية؛ حيث تم تحقيق هذا التقدم العظيم عن طريق اختيار سلالات الفطر ذات القدرة الفائقة على إنتاج المضاد الحيوى، وكذلك عن طريق تعديل الدورة فوق الجنسية **parasexual cycle** لمثل هذه الفطريات.

وفى الحقيقة فإن هذا النجاح الباهر فى ذلك المجال -وغيره من المجالات الأخرى التى تستخدم فيها الفطريات- قد يكون راجعاً إلى المحاولات المستمرة التى أدت إلى تطوير الهندسة الوراثية للفطريات (هندسة الجينات **genetic manipulation**). ولعل الإستثناء الوحيد من القاعدة السابقة هو فطر الخميرة ***Saccharomyces cerevisiae***، والذى يمكن مقارنته بالفطريات الهيفية ذات النظام الجينى الأكثر استجابةً للتغير.

ولقد تطورت -فى الآونة الأخيرة- دراسة الجينات الفطرية وتوريث الصفات المرغوبة واستبعاد غير المرغوبة فيما يسمى بـ «الهندسة الوراثية»؛ والذى أدى إلى تطورٍ هائلٍ فى التقنية الحيوية للفطريات واستعمالها فى الصناعات المختلفة.

١ـ الطفرات والمواد المطفرة:

تعتبر الطفرات تغيراتٍ فى صفات الفطر يورثها لأجياله التالية؛ حيث تحدث هذه التغيرات فى الجينات **genoms** نتيجة عوامل مختلفةٍ مؤثرةٍ على جزىء الحمض النووى **DNA** وعلى تتابع القواعد النووية، وقد تصل هذه التغيرات إلى مناطق كبيرةٍ من كروموسوم الفطر.

وتحدث الطفرات الطبيعية فى الجينات المتخصصة بدرجةٍ قليلةٍ للغاية، ولايمكن الاعتماد عليها فى تطوير السلالات الفطرية التى يعتمد عليها فى الصناعة؛ لذلك يجب دفع سلالات هذه الفطريات للتطفر باستخدام عوامل مطفرة

mutagenic agents. وبعض هذه العوامل طبيعى؛ مثل: أشعة **X**، والأشعة فوق البنفسجية، وبعضها كيميائى؛ مثل: حمض النيتروز، ومادة دى مثيل سلفونات **de-methylsulphonate**، ومادة إيثيل ميثان سلفونات **ethylmethanesulphonate** **(EMS)**، ومادة **acridine mustards**.

ويعتبر التأثير الرئيسى لمثل هذه المواد المطفرة هو إحداث ضررٍ ما، أو إحداث تعديلٍ فى تتابع القواعد النتروجينية فى جزىء الحمض النووى **DNA**؛ حيث تظهر مثل هذه الطفرات إذا استمر هذا الضرر دون إصلاح. وعادةً ماتحدث مثل هذه الطفرات عَرَضاً وبصورةٍ عشوائية، ومع ذلك، فإن الاحتياج إلى حدوث الطفرات (التطفر) يزداد للحصول عل طفراتٍ ذات قدرةٍ عالية على إنتاج كمياتٍ كبيرةٍ من المضادات الحيوية؛ وخاصةً من الفطريات ***Penicillium chrysogenum***، و ***Cephalosporium acremo-nium***.

و تشمل الأبحاث -التى تُجرى للبحث عن طفراتٍ جديدةٍ من هذه الفطريات- عزل سلالاتٍ جديدةٍ من البيئة من حولنا ذات قدرةٍ عالية على إنتاج المضاد الحيوى، وكذلك إنماء جراثيم هذه الفطريات بعد تعريضها لعوامل مطفرةٍ على بيئةٍ صناعيةٍ فى المعمل، وأيضاً إنماء جراثيم مثل هذه الفطريات على بيئاتٍ تحتوى على أحماضٍ أمينيةٍ أو مركباتٍ كبريتيةٍ تعادل فى تأثيرها حمض **α aminoadipic acid**، والحمضين الأمينيين سستين **cystein**، وفالين **valine**؛ حيث تعتبر هذه الأحماض مواد أوليةً لتكوين المضاد الحيوى بنسيلين وسيفالوسبورين (سى).

٢- الأنظمة فوق الجنسية Parasexual systems :

بعض الفطريات ذات الأهمية الصناعية (مثل تلك الأنواع التابعة للجنسين ***Aspergillus*** و ***Penicillium***) ينقصها التكاثر الجنسى؛ وعلى ذلك فإنه فى مثل هذه الأنواع توفر الدورة فوق الجنسية الفرصة للدراسة الجينية **genetic study** ولعمل أنظمة للتربية.

ولقد اكتُشفت الدورة فوق الجنسية عن طريق الباحثَيْن **Pontecorvo & Roper**؛ خلال دراستهما للاختلاف النووى فى الفطر ***Aspergillus nidulans***.والدورة فوق الجنسية عبارة عن مجموعة من الأحداث المتعاقبة التى يمكن حثها عند إنماء مجموعةٍ مختلفةٍ من السلالات المتباينة وراثيًا بعضها مع بعض فى المعمل؛ وهذا يحدث أيضًا فى الطبيعة.

إن الاختلاف النووى فى ميسليومٍ ما - يحتوى على نواتين مختلفتين وراثياً - إنما هو ناتج من اتحاد هيفتين أحادتى النواة، كل منهما تَختلف عن الآخرى وراثيًا، ويطلق على مثل هذا الاتحاد الجسدى اسم «**anastomosis**». ويعتبر هذا الاتحاد نادر الحدوث، ولكن يمكن تشجيعة عن طريق استعمال سلالاتٍ فطريةٍ ذات متطلباتٍ غذائيةٍ معينة؛ وهذا يجعلها تنمو تحت ظروفٍ تشجع تكوين الميسليوم المختلف الأنوية؛ مما يميزها عن ميسليوم الأبوين.

وعادةً ما تستخدم سلالات فطرية مكملة لبعضها من ناحية احتياجاتها الغذائية **nutrionally complementing auxotrophic strains** ؛ حيث تُنمّى على بيئةٍ ذات محتوى غذائيٍّ مختارٍ، يعمل على تشجيع نمو الهيفات الفطرية الثنائية الأنوية المتباينة، ولقد أمكن عن طريق مثل هذة الآلية زيادة الإنتاج الحجمى للبنسيلين.

ولقد استخدمت حديثًا طريقة اندماج البروتوبلاست، وهى طريقة مباشرة للحصول على هيفات ثنائية الأنوية المختلفة؛ حيث يتم عزل البروتوبلاست من الخلايا النامية للفطر أو الخميرة؛ وذلك عن طريق إزالة الجدار الخلوى؛ عن طريق هضمه باستعمال إنزيماتٍ محللةٍ للجدار؛حيث يتم ذلك فى وسطٍ آسموزيٍّ متعادل. ويتم دمج البروتوبلاست الناتج من كل سلالةٍ عن طريق معاملتة بمادة بولى إثيلين جليكول **polyethyleneglycol** ، آوعن طريق الدمج الكهربى **electrofusion** .

وتتم زراعة (إنماء) البروتولاست المندمج على بيئة نموٍّ خاصةٍ مزودةٍ بمادةٍ تحافظ على الضغط الآسموزى؛ حتى يتم اختيار الهيفات الثنائية الأنوية المختلفة الناتجة. ويعمل الاتحاد البروتوبلاستى على إتمام الدورة فوق الجنسية؛ حيث تنتج عنه أنوية ثنائية المجموعة الصبغية، تنقسمِ اختزاليًا بعد ذلك.

ويتبع أسلوب اختيارى للحصول على الهيفات المندمجة الناتجة؛ فعلى سبيل المثال، إذاكانت هيفات فطريات الآباء لايمكنها تكوين بعض احتياجاتها الغذائية بنفسها، فقد تكون الهيفات الناتجة من الاندماج قادرةً على ذلك؛ ومن ثم تنجح فى نموها على البيئات الغذائية الفقيرة، فى الوقت الذى تفشل فية الهيفات الأبوية فى النمو.

وسرعان مايجتاز البروتوبلاست المندمج مراحل تخليق جدار خلوي جديدٍ وتكوين هيفاتٍ فطريةٍ تنمو مكونةً مستعمراتٍ فطريةً يتم تداولها بعد ذلك . وتعتبر إزالة الجدر الخلوية للحصول على بروتوبلاست سلالات أنواعٍ مختلفةٍ للفطر من العوامل التى فتحت آفاقاً واسعةً للحصول على هيفاتٍ ثنائية الأنوية المختلفة ذات تنوعٍ جينيٍ عريضٍ، وفى أسرع وقتٍ.

ومن أمثلة تلك التقنية الحديثة التى أمكن تطبيقها إنتاج سلالاتٍ لهيفات فطريةٍ عالية القدرة على إنتاج إنزيم **glucoamylase** من الفطر ***Aspergillus niger*** ؛ وذلك باستخدام سلالتين من الفطر، إحداهما سريعة النمو ولكنها ضعيفة فى إنتاجها للإنزيم.، بعكس السلالة الثانية، فهي بطيئة النمو، وغزيرة في إنتاجها للإنزيم.

٣ ـ نقل الصفات الوراثية Transformation :

لقد أحدث اكتشاف حمل خلايا خميرة الخباز ***Saccharomyces cerevisiae*** للبلازميد عام ١٩٧٠ ثورةً فى علم الوراثة، وفى الاستخدامات الصناعية لفطريات الخميرة، ثم بعد ذلك فى الفطريات الهيفية.

والبلازميد عبارة عن جزءٍ من الحمض النووى **DNA** فى شكلٍ خيطي أو حلقيٍ

مغلق . وينتقل هذا البلازميد ـ بمايحملة من صفاتٍ وراثيةٍ ـ من خليةٍ إلى أخرى، دون ارتباطه بنواة الخلية وما تحملة ـ هى الأخرى ـ من صفاتٍ وراثيةٍ .

ويوجد البلازميد فى خلايا الخميرة، بالإضافة إلى الحمض النووى الموجود فى النواة، وأيضاً الموجود فى الميتوكوندريا . ويبلغ طول البلازميد نحو ٢ نانوميتر ، ويوجد بصورةٍ حرةٍ فى السيتوبلازم أو فى النيوكليوبلازم **nucleoplasm**. والوزن الجزيئى للبلازميد حوالى٣,٩× ١٠ ^٦^ دالتون، ويحمل شفرات ستة ببتيداتٍ عديدة **polypep-tides** تقريباً . وقد يصل عدد النسخ المكررة من البلازميد إلى أكثر من ٦٠ نسخةً فى كل خليةٍ من خلايا الخميرة؛ وهذا يمثل حوالى ٣٪ من جملة الحمض النووى **DNA** فى الخلية.

وترجع أهمية وجود البلازميد فى خلايا فطريات الخميرة إلى إمكانية انتقاله من خليةٍ إلى أخرى حاملاً معه جزءاً من الصفات الوراثية؛ فيما يسمى بعملية نقل الصفات الوراثية **transformation** ؛ وذلك من خلال الغشاء السيتوبلازمى باستخدام بروتوبلاست خلايا الخميرة .

ويمكن استخدام البلازميد كوسيطٍ ناقلٍ **vector**؛ لنقل أى جزءٍ مرغوبٍ من كروموسوم سلالةٍ لفطر خميرةٍ ما إلى سلالةٍ أخري. وتتم تلك التقنية عن طريقة إدماج البلازميد المرغوب نقله في سلالة بكتيريةٍ مناسبةٍ ؛ مثل ***Escherichia coli***؛ حتى تتكون نسخ مكررة منه بكميةٍ مناسبةٍ، تستخدم بعد ذلك فى نقل الصفات المرغوبة.

ويتبع عند نقل الصفة المرغوبة إنتاج بلازميد مهجنٍ، يحمل جزءاً من بلازميد الخميرة، وجزءاً آخر من بلازميد بكتيريا ***E.coli***، بحيث يحتوى كل جزءٍ من هذة الأجزاء على المنطقة الخاصة بعمليات النسخ فى الخلية، والتى تبدأ منها عمليه التخليق أو النسخ .كما يجب أن يحتوى الجزء الخاص ببلازميد الخلية البكتيرية على الجينات المسئولة عن شفرة مقاومة المضادات الحيوية حتي يمكن الكشف عن الخلايا الحساسة لهذه المضادات.

وكذلك الحال فى الجزء الخاص من بلازميد خلية الخميرة، والذى يحمل الصفة المرغوبة المطلوب نقلها ـ ولتكن تخليق الحمض الأمينى ليوسين على سبيل المثال ـ حيث يمكن الكشف عنه؛ وذلك بإنماء الخلايا على بيئةٍ غذائيةٍ خاليةٍ من ذلك الحمض الأمينى، حيث لا تنمو سوي الخلايا المحتوية علي الجزء من البلازميد المسئول عن بناء ذلك الحمض الأميني، بينما لاتنمو الخلايا الأخرى الخالية منه.

ولكى يقوم هذا البلازميد بدوره فى نقل الصفة الوراثية المرغوبة، يتم نقل الجزء الخاص بشفرة إنزيمات قطع الأحماض النووية **restriction endonuclease** ؛ حيث تعمل هذة الإنزيمات على السماح بدخول أجزاءٍ من الحمص النووى **DNA**تحمل الجينات ذات الصفات المرغوبة؛ وذلك لأن إنزيمات قطع الأحماض النووية تعمل على كسر روابط محددةٍ فى أماكن خاصةٍ على طول الحمض النووى **DNA** .

ويعتبر بلازميد ***E. coli* PBR322** من أهم البلازميدات التى تحمل منطقة**Bam HI**، وهى المنطقة التى تحمل شفرات إنزيمات قطع الأحماض النووية، بالإضافة إلى حملها للجينات المسئولة عن مقاومة المضاد الحيوى تتراسيكلين. ويعنى ذلك أن ظهور صفة المقاومة لهذا المضاد الحيوى على عزلات الفطر تدل على انتقال إنزيمات قطع الأحماض النووية إلى مثل هذة العزلات. وبهذه الطريقة أمكن تطوير نظامٍ يسمح بالكشف عن البلازميدات المنتقلة إلى خلايا الأحياء الدقيقة (فطريات هيفية ـ خمائر ـ بكتيريا) .

وبهذه الطريقة ، أمكن نقل أجزاء من الحمض النووى **DNA** للفطر ***Neurospora crassa*** بين سلالات النوع الواحد بنجاح، وكذلك تم نقل أجزاءٍ من الحمض النووى بعد إدماجها فى بلازميد بكتيريا ***E.coli***.وفى تجارب أخرى ،أمكن نقل بعض صفات الفطر***Penicillium chrysognum*** باستخدام الحمص النووى **DNA** الفيروسى ؛ الذى يتميز بقدرته على التضاعف داخل خلايا بكتيريا ***E.coli***.

ويؤدى نجاح مثل هذة التجارب إلى إمكانية تعديل الصفات الوراثية للفطريات الهيفية ذات الأهمية الخاصة والاستخدامات الصناعية، والتى يعود الفضل فيها إلى اكتشاف البلازميد فى خلايا الخميرة، ثم فى خلايا الفطريات الهيفية بعد ذلك.

ولقد شارك كثير من الباحثين بتجاربهم الناجحة لنقل صفاتٍ معينةٍ بين سلالات بعض الفطريات الهيفية؛ مثال ذلك؛ الفطر ***Neurospora crassa*** ، والفطرِ ***Aspergillus nidulans***. بينما صاحب الأبحاث على فطرياتٍ هيفيةٍ أخرى بعض التعديلات على الطرق المستخدمة التى سبقت الإشارة إليها.

ويعتمد نظام النقل الوراثى فى الجنس ***Aspergillus*** على استخدام طفراتٍ محدودة النمو من الفطر ***A. nidulans*** ومن ثم فإنة يمكن التأكد من تمام عملية نقل الصفات الوراثية من خلال الكشف عن الصفة الوراثية المفقودة فى النوع البرى، والتى تم نقلها إلى النوع ***A. nidulans***؛ وذلك عن طريق اختيار المستعمرات الفطرية ذات القدرة على النمو فى غياب العنصر الغذائى فى البيئة، والذى يمكن لسلالة الفطر تمثيله بنفسها.

وهناك عديد من الدلائل الوراثية التى يمكن استخدامها فى عمليات النقل الوراثى باستعمال الفطر ***A. nidulans***؛ منها طفرة احتياج الفطر لليوريدين؛ حيث لايستطيع الفطر تمثيلها بنفسه؛ نظراً لغياب إنزيم-**orotidine-5 -phosphate decarboxylase**،وطفرة احتياج الفطر للاسيتاميد؛ وذلك نظراً لغياب إنزيم **acetamidase**، وطفرة الاحتياج إلي التربتوفان؛ وذلك نظراً لغياب جين(**Tryptophan gene (Trpc** ، وطفرة الاحتياج إلى الحمض الأمينى أرجينين ؛ نظراً لغياب جين **arginine gene (argB)**.

وتعتمد الآلية المستخدمة فى عمليات نقل الصفات الوراثية فى الفطريات الهيفية على إدخال الجينات المطلوب نقلها فى أحد بلازميدات بكتيريا ***E.coli***؛ مثل **PBR322** ، أويتم تركيب بلازميد من المادة الوراثية لكلٍّ من بكتيريا ***E.coli*** وخميرة ***Saccharomyces cerevisiae***، ثم تجهيز بروتوبلاست الخلية المستقبلة لدخول البلازميد وخلطة مع البلازميد.

ويتبع ذلك فترة قصيرة من التحضين؛ حتى يسمح بالتقاط الحمض النووى **DNA** البلازميدى ودخوله إلى البروتوبلاست. ويتم بعد ذلك إجراء مسح للبحث عن الخلايا التى تم فيها دخول البلازميد؛ وذلك عن طريق اختبار الدليل الغذائى المتخصص **specific nutritional marker**.

وتدل نتائج الدراسات السابقة على أن معدل نجاح نقل الصفات الوراثية منخفض؛ حيث يمكن الحصول على نحو ١٠-٢٠ خليةً معدلةً لكل ميكروجرام واحد من الحمض النووى **DNA**. إلا أن تطوير هذه التقنية أدى إلى زيادة معدل النجاح إلى أكثر من ٥٠٠ خليةٍ معدلةٍ لكل ميكروجرامٍ واحدٍ من الحمض النووى.

وأظهرت الدراسات أيضاً أن أكثر الخلايا التى تم تعديلها هى تلك التى حدث لها نقل جينات إلى الكروموسوم عند بدء نقطة التحلل الأساسية على الكروموسوم.

ولقد تم تحويل السلالات التجارية غير المطفرة من الفطر ***A.niger***؛ وذلك باستعمال جين **amdS** من الفطر ***A.nidulans***؛ وذلك لأن الفطر الأول ضعيف النمو على الأسيتاميد؛ كمصدرٍ وحيدٍ للنيتروجين؛ نظراً لعدم احتوائه على جين **amdS**.

ونتيجة لما سبق، فإن استخدام الجين **amdS** فى نقل الصفات الوراثية بين الفطريات الهيفية، مع استعمال الدلائل الغذائية أدى إلى زيادة الكفاءة لاستبداء دخول هذا الجين فى الفطريات ذات الأهمية الصناعية.

٤- قدرة الخلايا على دمج الحمض النووى وإنتاج البروتينات:

أدت التطبيقات الحديثة لطرق دمج الحمض النووى **DNA** فى الخمائر والفطريات الهيفية إلى فتح آفاقٍ جديدةٍ لإنتاج كائناتٍ حيةٍ متطورةٍ عالية الإنتاج. وبالإضافة إلى ذلك استعملت الفطريات الهيفية كوعاءٍ حيوىٍ يتم فيه إنتاج أنواعٍ عديدةٍ من البروتينات ذات الأهمية الاقتصادية العالية.

ويرجع تفضيل استعمال الفطريات الهيفية فى هذا الغرض إلى أن عمليات ترجمة إنتاج البروتينات المتخصصة يمكنها أن تصل إلى معدلاتٍ إنتاجيةٍ مرتفعةٍ، بالإضافة إلى

قدرة هذه الفطريات على إفراز كمياتٍ كبيرة من الإنزيمات الخارجية فى بيئة النمو؛ مما يسمح بالوصول إلى الإنتاج التجارى بسهولةٍ.

وهناك مجموعة من العوامل التى تجب مراعاتها حتى يمكن إنتاج مثل هذه البروتينات المتخصصة بواسطة الفطريات الهيفية؛ أهمها:

* زيادة كفاءة الجينات المسئولة المتخصصة فى دورات تخليق نواتج التمثيل الغذائى؛ مما يؤدى إلى تحسين إنتاجية هذه النواتج.

* زيادة كفاءة الترجمة، وإنتاج البروتينات المتخصصة، سواء أكانت متجانسة أم غير متجانسةٍ؛ وذلك لتحسين عملية إنتاج الإنزيمات، أو أية بروتيناتٍ أخرى نشطةٍ حيوياً.

ولقد أدى تطور عمليات نقل الحمض النووى **DNA** -فى معظم الحالات- إلى أنه أصبح فى الإمكان استخدام الفطر ***Aspergillus*** كوعاءٍ حيوىٍّ لإنتاج بروتينات الاتحاد الوراثى؛ مثال ذلك إنتاج عديدٍ من البروتينات ذات التأثيرات العلاجية للإنسان؛ كهرمونات النمو، والسيتوكينينات، وغير ذلك من هرموناتٍ أخرى ذات طبيعةٍ بروتينيةٍ يتم تخليقها عن طريق الفطر ***Aspergillus*** بعد نقل نظام تخليق هذه الهرمونات البروتينية إليه.

ويفضل استخدام الفطريات فى مجال إنتاج الهرمونات ذات الطبيعة البروتينية على استخدام الكائنات الحية الأخرى الأولية النواة -كالبكتيريا- ويرجع ذلك إلى أن عمليات نسخ الجينات وترجمتها عن طريق تلك الكائنات الأولية النواة (مثل بكتيريا ***E.coli***) ينتج عنها بروتينات ينقصها بعض التراكيب الكيميائية الهامة؛ مثل الروابط الكبريتية، والنهايات الطرفية لمجموعة الأمين.

وبالإضافة إلى ماسبق، فإن البكتيريا لاتستطيع -عادةً- استكمال جميع عمليات التعديل مثل **glycation**؛ وهذا يحدد -عادةً- استخدامها على نطاقٍ واسعٍ فى جميع

عمليات التعديل الوراثى، أو استخدامها كوعاءٍ حيوىّ لإنتاج مركباتٍ جديدةٍ؛ وهذا مادفع الباحثين إلى الاعتماد على الكائنات الحية الدقيقة ذات النواة الحقيقية -كالفطريات- فى إنتاج البروتينات المتجانسة **homologous protein production**.

وتعتبر خميرة الخباز ***Saccharomyces cerevisiae*** أكثر الفطريات المستخدمة كأوعيةٍ حيويةٍ فى إنتاج البروتينات؛ سواء داخل الخلية نفسها **intracelluar proteins**، أم تلك البروتينات المفرزة خارج الخلية **secreted proteins**. ويلاحظ أن إنتاج البروتينات الداخلية يحتاج إلى مستوياتٍ عاليةٍ من الاتحاد الوراثى، بينما كان الاتحاد الوراثى فى إنتاج البروتينات الخارجية أقلّ نجاحًا.

ومن ناحيةٍ أخرى، تعتبر الفطريات الهيفية والخمائر عوائل بديلةً لكائناتٍ حيةٍ حقيقية النواة ذات قيمةٍ عاليةٍ؛ وذلك لأنها ذات قدرةٍ عاليةٍ على إفراز كمياتٍ كبيرةٍ من البروتينات المعاد توفيقها **recombinant proteins**.

وترجع معظم التطورات التى تم الوصول إليها فى مجال إنتاج البروتينات من الفطريات الهيفية إلى اتباع تقنية الهندسة الوراثية باستعمال الفطر ***Aspergillus nidulans*** -على الرغم من أنه لايمثل أهميةً كأحد الفطريات المستخدمة فى الصناعة- إلا أنه يمثل نموذجاً وراثيًا تجرى عليه مثل هذه التجارب.

ويحتاج تطوير نظام إنتاج البروتينات الذى سبقت الإشارة إليه - فى أى كائـنٍ حيّ - إلى عاملٍ ناقلٍ **expression vector** وتقنيةٍ لنقل الحمض النووى **DNA** إلى العائل المناسب. ولقد توصل كثير من الباحثين إلى تطوير هذا النظام فى الفطريات الهيفية بنجاحٍ كبيرٍ.

ولقد تم نقل عديدٍ من الجينات فى الفطر ***Aspergillus***، والتى تشمل مواد نشطةً حيويًا؛ مثال ذلك الكيموسين البقرى (المنفحة) **bovine chymosin**، وبعض الإنزيمات الفطرية ذات الأهمية التطبيقية؛ مثل إنزيم تحليل البروتين **protease**، وتحليل الدهون **lipase**، بالإضافة إلى إنزيم إندوجلوكانيز البكتيري **bacterial endoglucanase**.

وهناك بروتينات أخرى ذات أهمية علاجية **pharmaceutically important pro-teins** أمكن أيضاً إنتاجها باستعمال الفطر ***A.nidulans***؛ مثال ذلك البروتين النشط **human interferon alpha**، وهو يعتبر عاملاً فعالاً مضاداً للفيروسات **active antivi-ral agent**، علاوة على أنه من المواد التى تم اكتشاف قدرتها كمادةٍ مضادةٍ للسرطان **anticancer agent**.

ومن المواد الأخرى التى تم إنتاجها باستخدام تلك التقنية الحيوية مادة منشطة لأنسجة الإنسان **human tissue plasmingen activator (t-PA)**، والتى صنعت وأفرزت بواسطة الفطر ***A.nidulans*** . وبالإضافة إلى ذلك تم إنتاج بروتيناتٍ بشريةٍ أخرى ذات أهمية علاجيةٍ باستخدام نفس التقنية الحيوية؛ مثال ذلك عامل نمو الجلد **epidermal growth factor (EFG)**، وهرمون النمو **human growth hormone (hGH)**، ومادة **interleukin -6- and corticosteroid** المرتبطة بالجلوبيولين **globu-lin**.

ويتميز فطر ***A.nidulans*** بأن البروتين المعاد توفيقه **recombinant protein** فى خلاياه –الذى يقوم بإفرازه بعد ذلك– يتطابق مع البروتينات التى تنتجها خلايا الحيوانات الثديية؛ وعلى ذلك فإن استخدام هذا البروتين فى علاج الإنسان يكون مأموناً.

وكذلك الحال فى الإنزيمات الداخلية؛ حيث أمكن نقلها بنجاحٍ من خلية الإنسان إلى خلايا الفطر ***Aspergillus***؛ ومن أهمها الإنزيم البشرى **copper-zinc superoxid dismutase** والذي يستخدم في علاج بعض أمراض الروماتيزم؛ حيث أمكن تخليقه بمستوياتٍ عاليةٍ فى خلايا الفطر.

كما نجحت عمليات دمج البروتينات فى خلايا الخميرة المحبة للميثيل **methylo-trophic yeast (*Pichia pastoris*)**؛ وذلك عن طريق بعض الباحثين فى معهد فيليب للبترول **Phillips Petroleum Institute**؛ حيث تم إنتاج عديدٍ من البروتينات الداخلية؛

مثل عامل موت الخلايا المتضخمة **tumour necrosis factor**، وإنزيم **strep-tokinase**، وهورمون نمو سمك السلمون **salmon growth hormone** ، مركب جاما إنترفيرون **interferon gamma** والبيومين سيرم الدم البشرى **human serum albumin**، وانتيجينات مرض نقص المناعة (الإيدز) **HIV**.

وبالإضافة إلى ماسبق، شمل إنتاج البروتينات الخارجية المفرزة من خلايا الفطر إلى البيئة التى ينمو فيها إنزيم الإنفرتاز **invertase**، والبيومين سيرم الدم البشرى، وأيضاً منشط بلازمينوجين الأنسجة **tissue plasminogen activator**، والليسوزيم البقرى **bovine lysozyme**.

ومن ناحيةٍ أخرى استخدم مؤخراً الفطر ***Trichoderma reesei*** فى إنتاج البروتينات المتجانسة وغير المتجانسة؛ حيث عدَّل الباحثون **Usitalo et al** فى دراستهم المنشورة عام ١٩٩١ من صفات سلالاتٍ تابعةٍ للفطر السابق، واستخدموها فى إنتاج خليطٍ من الإنزيم المحلل للسيليلوز **cellulase** ذى الأهمية البالغة فى التقنية الحيوية. وأيضاً أمكن استخدام أنواعٍ أخرى من الفطر ***Trichoderma*** فى إنتاج منفحة العجول **calf chymosin**، وفى إنتاج بروتيناتٍ أخرى من أصولٍ مختلفةٍ.



الباب السابع

التخمرات الصناعية



التخمرات الصناعية

أولاً : المواد المستخدمة في التخمرات الصناعية :

يجب أن تحتوى جميع البيئات المستخدمة فى تنمية الكائنات الحية الدقيقة على العناصر الغذائية اللازمة لنموها، وفى صورةٍ صالحةٍ لتخليق جميع مكونات الخلية، بالإضافة إلى نواتج التمثيل الغذائى (الأولى أو الثانوى) المطلوب إنتاجها.

وعادةً ما تستخدم مركبات كيميائية نقية محددة التركيب عند تجهيز البيئات المستخدمة خلال الدراسات التى تجرى فى المعامل البحثية، أما بالنسبة إلى التخمرات الصناعية التى تجرى فى المصانع على نطاقٍ واسعٍ، فإنه لايمكن استخدام مثل هذه المركبات الكيميائية النقية الباهظة الثمن، ولكن يستخدم بدلاً منها بعض النواتج الثانوية لعمليات التصنيع الغذائي أو المخلفات الزراعية.

وتتميز تلك النواتج الثانوية بانخفاض سعرها، وخاصة أن نسبةً عاليةً جداً من تكاليف التخمر – تتراوح بين ٢٥٪ و ٧٠٪– تعتمد على مصدر المواد الكربوهيدراتية المستخدمة. إلا أنه يعيب مثل هذه المواد أنها غير محددة التركيب، بل وفى أحيانٍ كثيرةٍ يتم استخدام مخلوط من أنواعٍ مختلفةٍ من هذه المواد المتباينة التركيب.

وخلال عمليات التخمر الصناعى تجب مراعاة الآتى :

* استخدام بيئةٍ غذائيةٍ مثاليةٍ متوازنةٍ، تحتوى على جميع العناصر الغذائية الضرورية

لنمو الكائن الحى المستخدم فى عملية التخمر، وبتركيزاتٍ مناسبةٍ. وفى بعض الأحيان يلجأ القائمون على العمل إلى استخدام برنامجٍ معينٍ فى الحاسب الآلى؛ للوصول إلى التركيزات المثالية التى يجب الالتزام بها؛ للحصول على أفضل ناتج من التخمر الصناعى كماً ونوعاً.

* يجب تحليل مكونات البيئة الغذائية المستعملة فى التخمر الصناعى بصورةٍ دوريةٍ؛ وذلك للتأكد من كفاءتها الإنتاجية. وعادةً ماتجرى بعض التجارب الأولية على المواد الغذائية المقترح استخدامها لأول مرةٍ فى التخمرات الصناعية، قبل استخدامها فى الإنتاج التجارى.
* يجب حساب معدل الإنتاج بصورةٍ دوريةٍ، والتأكد من حسن سير عملية التخمر والمواد الناتجة منها.
* يجب التأكد من توافر المواد الخام المستخدمة فى تجهيز البيئة الغذائية المستعملة لتنمية الكائن الحى خلال عملية التخمر الصناعى، وعادةً مايلجأ القائمون على العمل إلى تخزين كمياتٍ وفيرةٍ من هذه المواد الخام فى مخازن خاصةٍ قريبةٍ من موقع العمل.

١- المواد الكربوهيدراتية :

من أهم مصادر الكربون المستخدمة فى هذه البيئات الغذائية المواد الكربوهيدراتية. ونادراً ماتستخدم السكريات النقية -كالجلوكوز والسكروز- كمصدرٍ كربوهيدراتيٍّ فى التخمرات الصناعية، ولكن عادة ماتستخدم بعض النواتج الثانوية للصناعات الغذائية؛ مثل المولاس الذى ينتج عن صناعة السكر؛ سواء من القصب، أم من البنجر.

ويتميز المولاس باحتوائه على نسبةٍ عاليةٍ من السكريات، بالإضافة إلى بعض المواد النيتروجينية والفيتامينات والعناصر المعدنية. ويختلف تركيب المولاس تبعاً لمصدره. ويوضح جدول (٥) تركيب كلٍّ من المولاس الناتج من قصب السكر، وبنجر السكر.

كما يختلف تركيب المولاس تبعاً لمكان زراعة المحصول، والظروف البيئية التى تعرض لها، وخاصة درجات الحرارة، والرطوبة النسبية. وكذلك تلعب طريقة

جدول (٥) : مقارنة المحتوى الغذائى (٪) بين كل من مولاس القصب ومولاس البنجر.
عن (Crueger & Crueger, 1990)

المكون ٪	مولاس القصب	مولاس البنجر
المادة الجافة ٪	٧٨-٨٥	٧٧-٨٤
السكروز	٤٨,٥	٣٣,٤
الرافينوز	١,٠	-
السكريات المحولة	١,٠	٢١,٢
مواد عضوية أخرى	٢٠,٧	١٩,٦
النتروجين	٠,٢-٢,٨	٠,٤-١,٥
الفوسفور	٠,٠٢-٠,٠٧	٠,٦-٢,٠
الكالسيوم	٠,١٥-٠,٧	٠,١-١,١
المغنسيوم	٠,٠١-٠,١	٠,٠٣-٠,١
البوتاسيوم	٢,٢-٤,٥	٢,٦-٥,٠
السيليكون	٠,١-٠,٥	-
الألومنيوم	٠,٠٠٥-٠,٠٦	-
الحديد	٠,٠٠١-٠,٠٢	-
الرماد	٤-٨	٧-١١
الثيامين*	١٣٠	٨٣٠
الريبوفلافين*	٤١	٢٥٠
البيريدوكسين*	٥٤٠	٦٥٠
النياسين*	٥١٠٠	٢١٠٠
حمض الفوليك*	٢١	٣,٨

* ميكروجرام/ ١٠٠ جرام مادة جافة.

استخلاص السكر فى المصنع دوراً كبيراً فى تركيب المولاس المتخلف عن صناعة السكر.

وهناك مواد أخرى تستخدم كبيئةٍ غذائيةٍ لتنمية الأحياء الدقيقة فى التخمرات الصناعية؛ مثال ذلك المتخلفات الناتجة من إنتاج الجلوكوز من النشا، وكذلك متخلفات المولت الناتجة من صناعة البيرة.

ويتميز متخلف المولت بأنه من أفضل البيئات المستخدمة فى تنمية الفطريات الهيفية والخمائر؛ نظراً لاحتوائه على عناصر غذائيةٍ كافيةٍ لنموها؛ فلقد أوضحت عديد من الدراسات احتواء مستخلص المولت الجاف على نحو ٩٠٪ – ٩٢٪ مواد كربوهيدراتية؛ حيث يمثل المالتوز حوالى ٥٢,٢٪ منها، والسكريات السداسية (مثل الجلوكوز والفركتوز) على حوالى ١٩,١٪، بينما لايمثل السكروز إلا حوالى ١,٨٪ من هذه المواد الكربوهيدراتية، كما تحتوى هذه المواد على ١٥,٠٪ دكستريناً.

وتمثل المواد النتروجينية حوالى ٤,٦٪ من مستخلص المولت الجاف، بينما تصل نسبة المعادن إلى نحو ١,٥٪. وتضم هذه المواد النتروجينية مركباتٍ مختلفة؛ مثل: البروتينات، والببتيدات، والأحماض الأمينية، والقواعد النتروجينية. ومن أهم الأحماض الأمينية الموجودة فى مستخلص المولت حمض البرولين؛ الذى يمثل نحو نصف كمية الأحماض الأمينية الكلية. كما توجد نسبة من الفيتامينات فى مستخلص المولت.

ويعتبر النشا والدكسترين –ونواتج تحللهما– من الخامات الهامة المستخدمة فى التخمرات الصناعية، وخاصة عند تنمية الأحياء الدقيقة المنتجة لإنزيم الأميلاز **amy-lase**؛ فعلى سبيل المثال تعتمد البرازيل فى إنتاج كحول الإيثانول على استخدام نشا الكاسافا، الذى يصل محصولها منه إلى حوالى ٩ مليون طنٍ سنوياً.

كما يستخدم محلول الكبريتيت المتخلف عن صناعة الورق sulfite waste liquors؛ والذى يحتوى على حوالى ٩٪–١٣٪ مواد صلبة، بالإضافة إلى نحو ٢–٣٪ سكرياتٍ خماسيةً وسداسيةً. وتتوقف كمية ونوعية المواد الصلبة والسكريات الموجودةً فى هذا المحلول المتخلف عن صناعة الورق على نوع الأشجار المستخدمة فى هذه الصناعة. ويعتبر هذا المحلول من المواد الشائع استخدامها كبيئةٍ غذائيةٍ لتنمية الفطريات الهيفية أو الخمائر خلال عمليات التخمرات المختلفة.

وبالإضافة إلى ماسبق، تتجه الدراسات الحديثة إلى استخدام المخلفات الزراعية السيليلوزية والليجنوسيليلوزية –مثل قش الأرز، وقوالح الذرة، ومصاصة القصب، وتبن القمح، والمخلفات الصلبة الناتجة من صناعة الورق، ومخلفات مصانع الأغذية– فى التخمرات الصناعية.

ومن المخلفات الأخرى المستعملة فى التخمرات الصناعية مخلفات مصانع منتجات الألبان؛ مثل الشرش whey وراشح اللبن permeate؛ حيث يصل الإنتاج العالمى منها إلى أكثر من ٨٠ مليون طنٍ سنوياً تحتوى على نحو ١,٥ مليون طنٍ من سكر اللاكتوز، يمكن الاستفادة منها فى كثيرٍ من الصناعات التخميرية.

وفى بعض الحالات يمكن استخدام الدهون والشحوم الحيوانية، وكذلك بعض الزيوت النباتية كإضافاتٍ للبيئات المستخدمة فى تنمية الأحياء الدقيقة خلال عملية التخمر، إلا أنه من النادر استخدام مثل هذه المواد كمصدرٍ وحيدٍ للكربون.

٢ـ المواد النتروجينية :

أما بالنسبة إلى المصدر النتروجينى المستخدم فى تنمية الأحياء الدقيقة خلال التخمرات الصناعية، فيستخدم –عادةً– أملاح الأمونيوم أو اليوريا أو غاز الأمونيا. كما تستخدم مخلفات صناعة النشا من الذرة corn steep liquor فى التخمرات؛ نظراً لاحتوائها على حوالى ٤٪ من المواد النتروجينية المحتوية على عديدٍ من الأحماض الأمينية المختلفة.

وبالإضافة إلى ماسبق، يمكن استخدام مستخلص الخميرة أو الببتون ومشتقاته، أو دقيق فول الصويا كمصدرٍ نيتروجينيّ. ويتم تجهيز مستخلص الخميرة عن طريق تحلل خميرة الخباز ذاتياً، وقد تجهز عن طريق بلزمة الخلايا باستخدام ملح كلوريد الصوديوم.

ويوضح الجدول التالى محتويات مستخلص الخميرة المجهز بالطريقتين السابقتين :

جدول (٦) : تركيب مستخلص الخميرة المجهز عن طريق التحلل الذاتى أو عن طريق البلزمة باستخدام ملح كلوريد الصوديوم.

المكون	مستخلص الخميرة الناتج بالتحلل الذاتى	مستخلص الخميرة الناتج عن طريق البلزمة
إجمالى المواد الصلبة ٪	٧٠	٨٠
النتروجين الكلى	٨,٨	٧,٤
البروتين	٥٥	٤٦
كلوريد الصوديوم	أقل من ١,٠	١٨
المحتوي من الفيتامينات (جزء في المليون)		
الثيامين	٢٠-٣٠	١٠-١٥
الريبوفلافين	٥٠-٧٠	٥٠-٧٠
البيريدوكسين	٢٥-٣٥	٢٠-٣٠
النياسين	٦٠٠	١٠٠
حمض البنتوثينيك	٢٠٠	٣٥٠

ويمكن إنتاج الببتون من مصادر مختلفة؛ كاللحوم، والكازين **casein**، والكيراتين **keratin**، وبذور القطن، وبذور الفول السودانى، وبذور عباد الشمس، وبذور فول الصويا، وغير ذلك من المصادر؛ ونتيجة لذلك يتوقف تركيب الببتون وفقاً لمصدره.

فعلى سبيل المثال، يتميز الببتون الناتج من الجيلاتين بخلوه من الأحماض الأمينية الكبريتية، إلا أنه غنى بأحماض البرولين والهيدروكسى برولين. وكذلك الحال فى الببتون الناتج من الكيراتين؛ فهو يخلو من الحمض الأمينى ليسين، ولكنه غنى فى البرولين والسستين. ويحتوى الببتون المحضر من مصدرٍ نباتيّ على كميةٍ كبيرةٍ من الكربوهيدرات.

وتلعب طريقة تحضير الببتون دوراً كبيراً فى تركيبه؛ سواء أكان التحضير بالطريقة الإنزيمية، أم بالطريقة الحامضية. ويوضح جدول (٧) تركيب الأنواع المختلفة من الببتون طبقاً لطريقة تحضيرها.

ومن ناحيةٍ أخرى، نلاحظ أن دقيق فول الصويا -وهو مخلف ناتج من استخلاص زيت فول الصويا- يحتوى على ٣٠٪ مواد كربوهيدراتية، و ٥٠٪ بروتيناتٍ، بالإضافة إلى ١,٨٪ ليسيثين **Lecithin**. وتشتمل المواد الكربوهيدراتية فى دقيق فول الصويا على السكروز والرافينوز والستاكيوز، بالإضافة إلى بعض السكريات العديدة. ويستخدم دقيق فول الصويا كمادةٍ لإنماء بعض الفطريات المستخدمة فى التخمرات الصناعية؛ كما هى الحال فى إنتاج المضادات الحيوية.

٣- المواد الإضافية :

وبالإضافة إلى كلٍّ من المصادر الكربونية والنتروجينية التى سبقت الإشارة إليها، نلاحظ أنه فى بعض الحالات يحتاج إنتاج مادةٍ ما بواسطة الفطر خلال مرحلة التخمر إلى وجود مادةٍ محفزةٍ، قد تتم إضافتها مرةً واحدةً عند بداية الإنتاج، أو تضاف بصورةٍ دوريةٍ للحفاظ على مستوى إنتاج المادة المرغوبة.

وقد يحتاج الأمر إلى إزالة بعض الأملاح المتكونة فى البيئة خلال عملية التخمر؛ حيث يؤدى وجودها إلى انخفاض معدل إنتاج المادة المرغوبة؛ فعلى سبيل المثال تؤدى أملاح الأمونيوم إلى تقليل استفادة الفطر بالأحماض الأمينية الموجودة فى البيئة؛ وذلك من خلال تأثير هذه الأملاح على الإنزيمات الناقلة للأحماض الأمينية عبر الجدار الخلوى.

جدول (٧) : محتوى الببتون المستخلص بطرق مختلفة . عن (Crueger & Crueger, 1990)

التركيب	ببتون من كازين محلل انزيمياً	ببتون من كازين معامل بالحموضة	ببتون من دقيق الصويا محضر بالإنزيمات
اجمالي المادة الصلبة	٩٥,٢	٩٦,٥	٩٦
الرماد٪	٥,٨	٣٩,٧	١٤,٠
النتروجين الكلي	١٢,٨	٨,٣	٩,٢
النتروجين الأميني	٦,٧	٦,٤	١,٨
كلوريد الصوديوم	٣,٠	٣٨,٠	٥,٩
الكربوهدرات	–	–	٢٩,٠
الأحماض الأمينية الحرة (مللجم/ جرام)			
ألانين	١٦,٨	١٤,١	٣,٣
أرجنين	٣٠,٢	٥,٠	١,١
حمض إسبارتيك	٨,٧	٣٣,٢	٢,٤
سيستين	–	٠,٧	–
حمض جلوتاميك	٣٨,٦	٧٩,٦	٥,٦
جليسين	٤,٤	٩,٣	٢,٣
هيستدين	١٣,٣	٤,٦	١,١
ايزوليوسين	٢٩,٩	١٠,٧	٢,٨
ليوسين	٧١,٩	٢٩,٧	٩,٤
ليسين	٦١,١	١٢,٨	٧,٩
مثيونين	٢٢,٧	١١,٢	٣,٣
فينيل ألانين	٣٣.–	٩,٧	٣,٧
برولين	٧,٤	٣٤,٥	٠,٨
ثريونين	٢١,٥	١٣,١	١,٩
تربتوفان	٨,٦	٠,٠٥	١,٦
فالين	٣٦,٤	١٦,٧	٣,٨
تيروسين	١٤.–	٤,٩	٠,٧
سيرين	٢٨,٧	١٩,٨	٤,٨

وهناك كثير من الفطريات المستخدمة فى التخمرات الصناعية تحتاج فى نموها إلى تركيزٍ منخفضٍ من الفوسفات خلال عملية التخمر وإنتاج المادة المرغوبة، لذا يعمد القائمون على العمل إلى إضافة أملاح الكالسيوم إلى بيئة التخمر؛ بغرض ترسيب أملاح الفوسفات الزائدة على الحاجة.

ومن العناصر الأخرى المحددة لإنتاج المضادات الحيوية -مثل البنسلين- تركيز كلٍ من الحديد والزنك، بينما يلعب المنجنيز دوراً هاماً فى إنتاج حمض الستريك، ويرجع تأثير هذه المعادن إلى دورها الحيوى الهام فى تثبيط أو تنشيط بعض الإنزيمات المؤثرة على كفاءة الفطر فى تخمير البيئة الغذائية التى ينمو عليها وتكوين المنتج المرغوب.

وعلاوة على ماسبق، تؤثر بعض المركبات العضوية على إنتاج المواد ذات الأهمية الصناعية؛ كما هى الحال فى تأثر إنتاج البنزيل بنسلين **benzyl penicillin** بمادة حمض الفينيل خليك **phenylacetic acid**؛ وهذا يجعل من الأهمية بمكانٍ متابعة مكونات بيئة التخمر التى ينمو فيها الفطر؛ حتى يمكن الحصول على أفضل منتجٍ.

كما تؤثر مكونات البيئة الغذائية على كفاءة إنتاج المادة المرغوبة؛ وذلك من خلال تأثيرها على الحالة الفسيولوجية للفطر المستعمل فى التخمر الصناعى، وكذلك على طبيعة نموه؛ فعلى سبيل المثال وجد أن الفطر ***Aspergillus niger*** المستخدم فى إنتاج حمض الستريك يكون فى أفضل حالاته عندما تكون نمواته على شكل كراتٍ صغيرةٍ متماسكة من هيفات الفطر.

وكذلك الحال عند إنتاج حمض الايتاكونيك باستخدام الفطر ***Aspergillus terreus***؛ حيث تتكون تلك الكتل الهيفية القصيرة المتجمعة فى شكلٍ كرويّ. وعلى العكس من ذلك عند إنتاج حمض الفيوماريك باستخدام الفطر ***Rhizopus arrhizus***؛ حيث تنمو هيفات الفطر بصورةٍ خيطيةٍ متفرعةٍ، وأيضاً عند إنتاج البنسلين باستخدام الفطر ***Penicillium chrysogenum***.

ويلعب رقم حموضة البيئة دوراً فى طبيعة النموات الهيفية الفطرية؛ ففى البيئات

القليلة القلوية إلى المتعادلة يكون النمو الفطرى على صورة هيفاتٍ خيطيةٍ، وخاصةً عند إضافة حمض الألجينيك **alginic acid** أو الكاربوكسى ميثيل سيليلوز **CMC**، وأيضاً عند إضافة العناصر المعدنية الثنائية التكافوء إلى بيئة نمو الفطر؛ حيث يؤدى ذلك إلى تثبيط النمو الخيطى الطبيعى للهيفات الفطرية؛ وذلك من خلال تأثيرها على الجدار الخلوى؛ مما يؤدى إلى تجمع هذه القطع الهيفية فى شكل كراتٍ صغيرةٍ متماسكة.

وهناك بعض المواد الناتجة من التخمرات الصناعية يتم تكوينها فى مرحلة تجرثم الفطر؛ ومن ثم تؤثر مكونات البيئة على تجرثم الفطر وعلى بدء تكوين هذه النواتج المرغوبة؛ فمثلاً يعمل التركيز المنخفض من المركبات النتروجينية فى البيئة الغذائية على دفع الفطر للتجرثم، وتكوين المواد المرغوبة الناتجة من التخمر فى نفس الوقت، بينما يؤدى وجود تركيزاتٍ مرتفعةٍ من الأحماض الأمينية إلى تأخير عملية التجرثم؛ ومن ثم خفض الإنتاجية.

ثانياً : تكنولوجيا التخمرات الصناعية :

تعتمد عملية إنتاج المواد الكيميائية حيوياً باستعمال الفطريات على إنماء بعض الأنواع المختارة العالية الإنتاج **selected high-yielding species** فى بيئة غذائية سائلة تملأ أوعية عملاقة. ومن البدائل المستعملة حديثاً فى هذا المجال إنماء الفطر على مواد صلبة؛ مثل نشارة الخشب أو القش، فيما يسمى بـ «تخمر المواد الصلبة **solid state fermentation**» .

ويستلزم إجراء عملية التخمر الصناعى بواسطة الفطريات وجود مواد صالحة لإنماء الفطر عليها، يطلق عليها اسم **substrate (feedstock)**؛ وهى عادةً ماتكون مواد سكريةً مثل السكروز أو الجلوكوز أو اللاكتوز، وقد تكون مادةً كحوليةً، أو تكون مخلفاتٍ سائلة ناتجة من التصنيع الغذائى؛ مثال ذلك نواتج التقطير، أو صناعة الحلوى.

ولقد استخدمت مثل هذه المواد المتخلفة عن الصناعة فى كثيرٍ من التخمرات الصناعية كمصدرٍ للمواد الكربوهيدراتية، إلا أنه تجب مراعاة إضافة مصدرٍ نتروجينيٍّ مناسبٍ لاستكمال الاحتياجات الغذائية للفطر ولإنتاج المادة المرغوبة، وأيضاً إضافة العناصر الصغرى والفيتامينات اللازمة لنمو الفطر ونشاطه الحيوى.

وحيث إن الفطريات كائنات تحتاج إلى الهواء؛ لذا فإن مراحل الإنتاج الصناعى فى البيئات السائلة تستلزم إجراء عملية التهوية، أو دفع غاز الأكسوجين فى محلول بيئة النمو التى تنمو فيها مثل هذه الفطريات.

ونظراً لانخفاض معدل ذوبان غاز الأكسوجين فى الماء نسبياً، فإن معدل نقل الأكسوجين وامتصاصه داخل الخلية الفطرية يعتبر أحد العوامل المحددة فى الإنتاج

الصناعى؛ لذا فإنه من الضرورى إتاحة أقصى كمية من الأكسوجين فى محلول بيئة نمو الفطريات المستخدمة فى الإنتاج الصناعى بأقل تكاليف ممكنة؛ حيث إنه من الشائع اتباع أسلوب التقليب فى خزانات التنمية العملاقة المستخدمة فى التخمر الحيوى، والتى يطلق عليها اسم «المفاعل الحيوى bioreactor».

١- تخمر البيئات السائلة Submerged fermentation :

يمكن تنمية الفطريات المستخدمة فى التخمرات الصناعية؛ سواء فى مزارع على دفعات batch cultures، أم فى مزارع مستمرة continuous cultures. وعلى الرغم من أن تنمية الفطر على دفعات يعمل على تشجيع إنتاج كتلة حيوية biomass كبيرة تتكون من النموات الفطرية وبتكاليف قليلة نسبياً، إلا أن استخدام المزارع المستمرة يلقى قبولاً أكثر لدى العاملين فى مجال التخمرات الصناعية.

ويقصد بالمزرعة المستمرة -كما هو واضح من تسميتها- أنها تُمد دائماً ببيئة غذائية جديدة تحتوى على جميع الاحتياجات اللازمة لنمو الفطر واستمرار نشاطه، مع وجود إحدى المواد المستخدمة فى البيئة كعامل محدد للنمو.

وفى مثل هذه المزارع المستمرة لايتطلب الحصول على المواد المنتجة تفريغ الخزان المحتوى على بيئة النمو، ثم إعادة تعقيمه تمهيداً لإنماء الفطر مرةً أخرى على بيئة جديدة. فإذا ماتجنبنا ذلك باتباع أسلوب المزرعة المستمرة، وفّرنا كثيراً من الوقت والجهد والتكاليف الباهظة.

وتتميز المزارع المستمرة -بالإضافة إلى ماسبق- بإمكان التحكم فى معدل نمو الفطر rate of growth مع ثبات تركيز المادة المستخدمة فى إنمائه substrate concentration؛ وبذلك يمكن أن ينمو الفطر المستخدم تحت ظروف ثابتة constant conditions؛ وهذا يعمل على زيادة كتلة الفطر الحيوية fungal biomass دون زيادة فى بيئة النمو.

وتظهر أهمية هذه التقنية؛ وذلك عند الاعتماد على التخمر الصناعى فى إنتاج كتلة حيوية للفطر تستخدم كغذاءٍ للإنسان؛ مثال ذلك إنتاج خميرة الخباز **baker's yeast**، وأيضاً إنتاج البروتين الفطرى **mycoprotein**. وعلى الرغم من أهميةً هذه التقنية، إلا أن هناك تقنيات أخري تستخدم في إنتاج مواد ذات أهمية صناعيةٍ كبرى؛ مثل إنتاج حمض الستريك بأسلوب المزارع العميقة أو الضحلة.

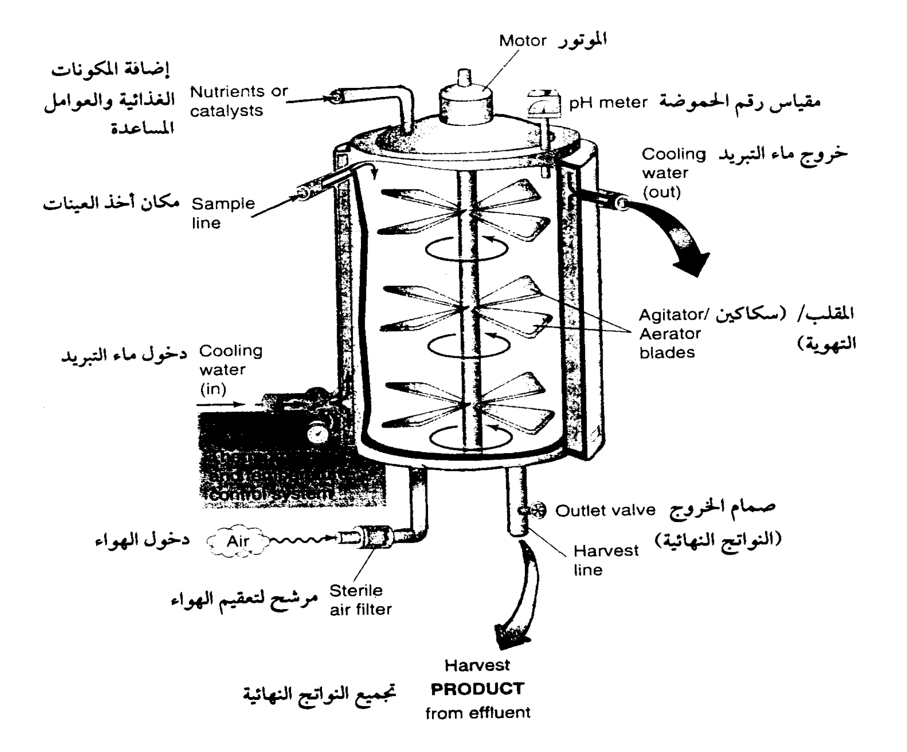
أـ المفاعل ذو الخزان القلاب The stirred tank reactor :

هذا النوع من أوعية التخمر عبارة عن وعاءٍ أسطوانى الشكل، يحتوى على مقلبٍ قطره نحو ١٠/١ قطر الوعاء؛ حيث يعمل المقلب على تسهيل عملية الخلط والتقليب دون حدوث دواماتٍ. وتتم التهوية عن طريق دفع هواءٍ معقمٍ يدخل من قاع الوعاء عبر أنبوبٍ ينتهى طرفه بما يشبه الرشاش، أو قد يكون مزوداً بحلقةٍ ذات فتحاتٍ. وقد يزود المقلب بعدة سكاكين تساعد على زيادة كفاءة التقليب.

وبصفةٍ عامة، فإن تصميم المقلب ونظم التقليب من العوامل المحددة لمعدل دفع الأكسوجين إلى محلول التخمر. وعلى الرغم من أن هذا النوع من أوعية التخمر هى الأكثر انتشاراً حتى الآن فى معظم المصانع المعتمدة على التخمرات الفطرية لإنتاج مواد ذات أهميةٍ صناعيةٍ، إلا أن تركيب مثل هذه المقلبات والتعامل معها يحتاج إلى عمالةٍ فنيةٍ مدربةٍ.

ب ـ وعاء التخمر البرجي Tower fermentor :

يتكون هذا النوع من الأوعية من وعاءٍ طويلٍ يبلغ طوله نحو ستة أضعاف قطره؛ حيث يتم دفع غاز الأكسوجين إليه من القاع؛وذلك على صورة فقاعاتٍ وليس بالتقليب، كما هى الحال فى المفاعل ذى الخزان القلاب.



شكل (٢٢): التركيب العام لوعاء التخمر ذى الخزان القلاب، المزود بسكاكين التقليب ووحدات التهوية والتحكم فى ظروف التنمية

ويتميز وعاء التنمية البرجى بإمكانية استخدام معدلات تنمية منخفضة مع قلة تكاليف التركيب والتشغيل. وعادةً مايستخدم وعاء التنمية البرجى فى إنتاج حمض الستريك؛ عن طريق الفطر الهيفى ***Aspergillus niger***، وفطر الخميرة ***Candida guilliermondii***.

ويحتوى المفاعل الحيوى الهوائى المغلق على أنبوبةٍ خارجيةٍ أو داخليةٍ مزودةٍ بمقلبٍ لتحسين عمليات التقليب فى وعاء التنمية؛ وذلك بزيادة معدل تدفق البيئة فى الوعاء. ويعتبر مصدر الطاقة اللازمة للتقليب هو اختلاف كثافة البيئة الداخلة إلى وعاء التنمية والبيئة الخارجة منه؛ بما تحمله من مواد رغويةٍ طافيةٍ.

جـ - التخمر السطحى Shallow fermentation :

تستخدم فى هذا النوع من التخمر صوانٍ يتم التحكم فى درجة حرارتها عن طريق تحضينها فى غرفٍ معقمةٍ ذات درجات حرارةٍ ثابتةٍ. ويعتبر هذا النوع من التخمرات من نوع التنمية على دفعات **batch culture** .

وتصنع الصوانى-المستخدمة فى هذا النوع من التخمر- من الألومنيوم العالى النقاء أو من الصلب غير القابل للصدأ. وتعتبر هذه الطريقة من الطرق الشائع استخدامها فى إنتاج حمض الستريك؛ وذلك باستخدام مولاس بنجر السكر كمصدرٍ كربونىٍّ، بينما يتم خفض رقم حموضة البيئة باستخدام حمض الكبريتيك؛ حيث يتراوح رقم الحموضة بين ٢,٥ و ـ٤,ـ .

ويضاف اللقاح الفطرى ـ البادىء ـ فى صورة معلقٍ من جراثيم الفطر المستخدم فى التخمر، بينما يُدْفَع هواء رطب معقم على سطح الصوانى خلال تحضينها فى الغرفة المعقمة على حرارة ٣٠°م.

وتنبت جراثيم الفطر خلال ساعاتٍ قليلةٍ، بينما يستكمل الفطر نموه الميسليومى بعد عدة أيامٍ؛ حيث تشاهد نموات هيفية بيضاء اللون تغطى سطح البيئة فى صوانى التنمية؛ منتجةً حمض الستريك فى البيئة.

ويتم الحصول على الكتلة الحيوية للفطر (النموات الميسليومية)؛ وهى تمثل مخلفاً ناتجاً من هذه الصناعة، بينما يعتبر حمض الستريك هو المنتج الأساسى. وبعد تفريغ الصوانى من محتوياتها يتم غسلها وملؤها بالبيئة الغذائية، ثم تعقم الصوانى بما تحتويه من بيئةٍ، ويعاد تلقيحها بمعلق جراثيم الفطر (البادىء).

وعلى الرغم من أن هذه الطريقة من الطرق القديمة الشائع استخدامها فى إنتاج حمض الستريك، كما أنها ذات كفاءةٍ منخفضةٍ فى إنتاجها، إلا أنها مازالت مستخدمةً حتى الآن وخاصةً فى المصانع الصغيرة المنتجة لهذا الحمض.

٢- تخمُّر المواد الصلبة Solid substrate fermentation :

تعتمد هذه الطريقة فى تنمية الفطر على مواد عضويةٍ صلبةٍ فى غياب الماء أو وجود كميةٍ قليلةٍ منه. ومن أمثلة المواد المستخدمة فى مثل هذه التخمرات: حبوب النجيليات، وبذور البقوليات، والمخلفات النباتية الليجنوسيليلوزية. ومعظم هذه المواد عبارة عن مركباتٍ معقدةٍ غير ذائبةٍ فى الماء.

وتُتبع هذه التقنية من التخمرات فى عديدٍ من دول شرق آسيا؛ وذلك لإنتاج بعض الأغذية الشعبية المتخمرة هناك؛ مثل التمبى **tempeh**، كما تستخدم نفس التقنية فى زراعة الأنواع التجارية من فطريات عيش الغراب.

وتتميز الفطريات المستخدمة فى هذه التقنية بمقاومتها للجفاف؛ حيث يمكنها النمو فى بيئاتٍ غذائيةٍ ذات نشاطٍ مائيٍّ منخفضٍ **low water activity (A_W)** . وحيث إن معظم هذه التخمرات التى تتم على المواد الصلبة هوائية، فإنه يجب أن تسمح الظروف -التى تتم فيها مثل هذه التخمرات- بتبادل الغازات؛ حيث يتم التخلص من ثانى أكسيد الكربون المتصاعد، ويحل محله مزيد من الأكسوجين اللازم للتنفس.

وحيث إن مراحل التخمر للمواد الصلبة هى فى مجملها عملية إنتاج كومبوست **compost**، فإنه عادةً ماترتفع درجة حرارة المواد المتخمرة ذاتيًا؛ حيث يمثل ارتفاع الحرارة مشكلةً يجب التخلص منها أو تجنبها. ويمكن منع ارتفاع حرارة المواد المتخمرة عن طريق التهوية بدفع تيارٍ من الهواء.

وتتميز تقنية تخمير المواد الصلبة بتكاليفها المنخفضة، وانخفاض الطاقة اللازمة

للتشغيل، وقلة المياه المتبقية بعد إجراء عملية التخمر، مع غياب الطبقة الرغوية التى تطفو-عادةً- على سطح البيئات السائلة المتخمرة؛ مسببةً مشكلاتٍ فى نظم تخمر البيئات السائلة.

ويمكن تنفيذ هذا النوع من تخمر المواد الصلبة على أساس الصوانى الضحلة (غير العميقة) **shallow trays**؛ حيث يُدْفَعُ هواء رطب من خلال المواد المتخمرة، أو من خلال أسطواناتٍ دوارةٍ **rotating drums** . ولقد طور بعض الباحثين مثل **(Considine et al., 1989)** نظاماً بسيطاً معتدل التكاليف؛ وذلك باستخدام أكياسٍ من البلاستيك.

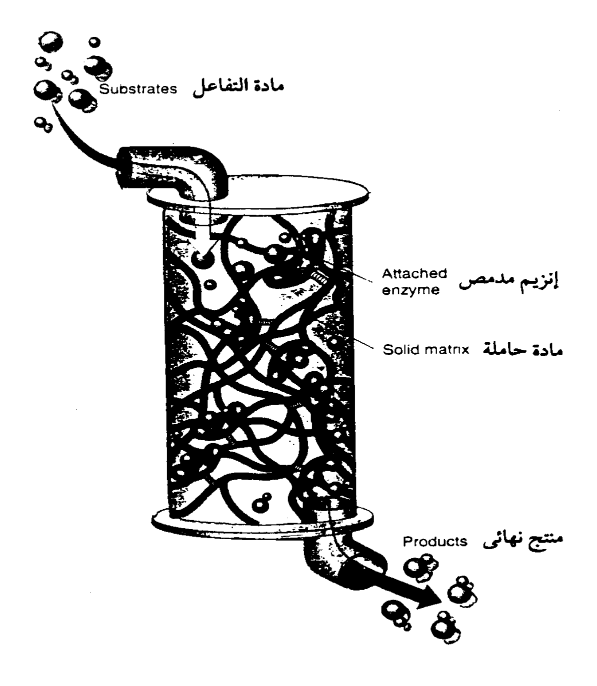
ويتم فى هذا النظام حقن لباب البنجر ورَدّة القمح وتبْن الشعير بالفطر ***Penicillium capsulatum*** بعد تعبئتها فى الأكياس البلاستيك التى سبقت الإشارة إليها، ثم يُدْفَعُ هواء رطب خلال تلك الأكياس. وينتج عن ذلك إنزيمات فطرية خارجية وكتلة حيوية للفطر دون تكاليف باهظة.

٣- نظام الخلايا الساكنة والمفاعل الغشائى

Immobilised cells and film reactor systems :

طور استخدام تقنية الإنزيمات الساكنة **immobilised enzymes** منذ بداية سبعينيات هذا القرن؛ حيث يتم تثبيت الإنزيم على سطح مادةٍ ما، أو يرتبط بإحدى المواد، ثم تمرر عليه مادة التفاعل دون أن يتأثر الإنزيم؛ مستمراً في نشاطه لفتراتٍ طويلةٍ.

وفى الوقت نفسه، تم تطوير هذه التقنية فى تثبيت خلايا الكائنات الحية الدقيقة، وكذلك خلايا النبات والحيوان. إلا أن هناك قليلاً من التطبيقات الصناعية لخلايا الفطر الساكنة. ويتميز نظام الخلايا الساكنة بأنه لايحتاج إلي عمليات تنقيةٍ وإعدادٍ للإنزيمات، كما أنه يعمل فى وجود تركيز عالٍ من الخلايا، ومعدل مرورٍ عالٍ لمواد التفاعل، دون أن يؤثر ذلك على إزالة خلايا الفطر من هذا النظام.



شكل (٢٣): مفاعل الإنزيمات الساكنة؛ حيث يدمص الإنزيم على مادةٍ حاملةٍ (مثل الألياف السيليلوزية).

وهناك عديد من الطرق المستخدمة لتسكين خلايا الفطر؛ منها الادمصاص **ad-sorption**، والاحتجاز **entrapment**، بالإضافة إلى طريقة الالتصاق الطبيعى **natural adhesion**.

ولقد استخدمت الطرق السابقة فى تسكين الإنزيمات الفطرية، ثم طُورت بعد ذلك لتسكين خلايا الفطر نفسها المنتجة لهذه الإنزيمات.

وتعتمد طريقة الادمصاص على ربط الخلايا مباشرةً على مواد حاملةٍ غير قابلةٍ للذوبان في الماء؛ وذلك بروابط ألكتروستاتيكية، وترتبط سطح الخلايا بالمادة الحاملة؛ بحيث تظل خلايا الفطر حيةً ونشطةً.

ويمكن تسكين خلايا الخميرة والفطريات الهيفية بالادمصاص على مبادلاتٍ أيونيةٍ **ion exchange resins**، أو علي قطع الزجاج **fritted glass** أو علي خزف الزركونيم **zirconium ceramic** .

ومن الطرق الشائعة الاستخدام في هذا المجال، احتجاز خلايا الفطر داخل مادةٍ هلاميةٍ حاملةٍ؛ مثل مادة بولى أكريلاميد **polyacrylamide**؛ أو مادة الجينات الكالسيوم **calcium alginate**.

ومن أفضل الأمثلة لاستخدام مادة بولى أكريلاميد لتسكين خلايا الفطر على مستوى الإنتاج التجارى، إضافة مجاميع الهيدروكسيل للسترويدات **steroid hydroxylation process** باستخدام الفطر ***Curvularia lunata*** المسكن، وكذلك خلايا بكتيريا ***Corynebacterium simplex*** المسكنة؛ حيث تستخدم هذه التقنية في تحويل مادة كورتيكسولون **cortexolone** إلى مادة بريدنيسون **prednisone** عبر مادة الكورتيزول **cortisol**.

ويمكن أيضاً احتجاز جراثيم الفطريات –كما هى الحال فى الفطر ***Curvularia lunata*** ـ بدلاً من احتجاز الهيفات، وفى هذه الحالة يفضل استخدام مادة الألجينات **alginate** لتسكين جراثيم هذا الفطر؛ حيث إن هذه المادة تكون أكثر فاعليةً من استخدام مادة بولى اكريلاميد.

وتنتج الكريات الصغيرة **pellets** من مادة الألجينات المسكن بها جراثيم الفطر السابق؛ وذلك على نطاقٍ تجاريٍّ واسعٍ؛ حيث تستعمل فى تعبئة المفاعلات الحيوية **bed bioreactors**.

ويمكن إنتاج حمض الستريك وحمض الجلوكونيك باستعمال الفطر ***Aspergillus niger*** المسكن على مادة ألجينات الكالسيوم **calcium alginate**. وتزداد معدلات إنتاج حمض الستريك باستعمال تقنية الفطر المسكن إلى خمسة أضعاف؛ بالمقارنة بإنتاجية الفطر النامى فى نظام التنمية على دفعاتٍ **batch culture system**.

ولإنتاج حمض الجلوكونيك **gluconic acid**، يستعمل مفاعل مجهز برزاز **trickle bed reactor** يحتوى على فطر ***A.niger*** مسكنٍ فى مادة ألجينات الكالسيوم؛ حيث يتم دفع محلول مادة التفاعل مع الهواء – أو الأكسوجين – إلى سطح المفاعل على صورة رزاز، مع دورانها المستمر عبر عمود المفاعل **reactor bed**. ويتم الحصول على معدل تحـوُّل حوالى ٩٣٪ بعد ٢٤ ساعةً باستخدام الأكسوجين، و ٤٤٪ فى حالة استخدام الهواء.

٤- التسكين بالالتصاق والغشاء السطحى النمو :

Immobilisation by adherence and surface film growth:

تميل معظم الفطريات – بصفةٍ عامةٍ –إلى الالتصاق بالأسطح الداخلية؛ حيث يمكن ملاحظة هذه الظاهرة للنمو الفطرى عند إنماء الفطر فى المعمل، وينظر إلى هذه الظاهرة كصفةٍ غير مرغوبةٍ أكثر من كونها ذات تطبيقاتٍ عمليةٍ.

وتظهر ظاهرة التصاق النموات الفطرية للأسطح الداخلية؛ وذلك عند إنماء الفطريات على بيئةٍ سائلةٍ فى دوارق مهتزة، أو مزارع ساكنة على دفعاتٍ **stationary batch culture**، كما تلاحظ ظاهرة التصاق ميسليوم الفطر على الأسطح كإحدى المشاكل فى التخمرات الصناعية؛ حيث يميل الفطر إلى الالتصاق بأنابيب التهوية مسبباً انسدادها، وقد يلتصق بالمقلبات والمراوح؛ مما يؤدى إلى خفض كفاءة عملية التخمر.

ويمكن اختبار قدرة الفطريات الهيفية على الالتصاق بالأسطح؛ وذلك بوضع قطعة من الحبل أو خيطٍ من النايلون فى دورقٍ مهتزٍ يحتوى على بيئةٍ سائلةٍ ينمو فيها أحد

الفطريات، وبعد فترة قصيرة من التحضين نلاحظ نمو الفطر ملتصقاً على الحبل أو الخيط؛ مكوناً حبلاً طويلاً من ميسليوم الفطر.

ولقد استغلت هذه الظاهرة -التي تعتمد على قدرة الفطريات الهيفية على الالتصاق بالحبال- فى استخدامات تطبيقية مفيدة؛ وذلك فيما يسمى المخمر الحبلى **cord fermentor**. ويتم ذلك عن طريق وضع مجموعة من الحبال سكن عليها الفطر؛ وذلك بصورة أفقية فى أنبوب التخمر **fermentation tube**؛ بطريقة تسمح لها بالالتفاف حول نفسها داخل بيئة النمو. ويراعى أن يصل حجم الأحبال الفطرية إلى منتصف الأنبوبة؛ مما يسمح لهذه الحبال بالمرور خلال البيئة السائلة؛ فتتبلل بها، ثم تتعرض للهواء بعد ذلك، وتستمر الحال هكذا بالتبادل؛ نتيجة دوران الأنبوبة المستمر.

وقد يُتبع نظام آخر فى هذا الشأن؛ وذلك بوضع الحبال المغطاة بالنموات الفطرية **fungus-covered cords** فى نظام رأسيّ ثابتٍ؛ بحيث يسمح للبيئة الغذائية المعرضة للأكسوجين **oxygenated medium** بالتدفق من أعلى إلى أسفل فى وعاء التخمر.

وهناك تقنيات أخرى، يسمح خلالها للفطريات بالالتصاق على اسطواناتٍ بصورةٍ طبيعيةٍ؛ مكونةً مايسمى «المفاعل الأسطوانى الدوار **rotating disc reactor**».

ويمكن -فى هذه الحالة- أن تكون دعائم الأسطوانة مصنوعةً من مواد مختلفةٍ؛ مثل الأسبستوس **asbestos**، أو البلاستيك، أو الألومنيوم، أو الزجاج.

ولقد استخدم هذا النوع من المفاعلات فى دراسة قدرة الفطر ***A.niger*** على إنتاج الأحماض العضوية. كما يمكن استعمال المفاعلات الأسطوانية الدوراة فى معاملة المخلفات؛ مثل تلك الناتجة من صناعة النشا. وأيضاً تلعب الأغشية الفطرية الطبيعية **naturally developing fungal films** دوراً هاماً فى نظم معاملة مياه الصرف الصحى.

ومن ناحيةٍ أخرى، يمكن تسكين الفطريات على جزيئاتٍ صغيرةٍ مصنوعةٍ من مادةٍ خاملةٍ، ثم إضافتها إلى مفاعل ذى خزانٍ قلابٍ **stirred tank**، أو إلى مفاعل الطبقة الهامة **fluidised bed reactor**.

وتستخدم فى مثل هذه الحالة كرات صغيرة مصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ، يصل قطر الكرة الواحدة إلى ستة ملليمترات، أو تستخدم قطع من الإسفنج الصناعى، أو كرات من الدياتوميت **Diatomite** (طحلب الدياتوم **celite**) التى تتميز بوجود ثقوبٍ داخليةٍ واسعةٍ تلتصق بها الجراثيم الفطرية عن طريق الخاصة الشعرية. وتستخدم هذه التقنية فى تسكين جراثيم الفطر ***Penicillium chrysogenum*** لإنتاج المضاد الحيوى «بنسلين».

٥- التحولات الحيوية باستخدام الجراثيم الفطرية:

تعامل جراثيم الفطريات -بصفةٍ عامةٍ- على أنها تراكيب ساكنة، إلا أنها تحتوى على عديدٍ من الإنزيمات التى يمكن الاستفادة منها من الناحية الاقتصادية.

فعلى سبيل المثال، يمكن استعمال الجراثيم الفطرية فى تغيير التركيب الكيميائى للستيرويدات **steroids**، وإنتاج المضادات الحيوية، والمواد المكسبة للنكهة (المنكهات) **flavonoids**. كما تستخدم هذه الجراثيم فى التحول الكيميائى لمدى واسعٍ من المركبات؛ بما فيها المركبات الهيدروكربونية **hydrocarbons** والقلويدات **alkaloids**.

ويتم استخدام الجراثيم الفطرية فى مثل هذه التقنيات الحيوية على مرحلتين؛ الأولى: إنتاج الجراثيم، وجمعها، وغسلها، ثم تحضين هذه الجراثيم مع مادة التفاعل **substrate**. وعادة مايتم الإنتاج التجارى لجراثيم الفطريات باتباع طريقة إنماء الفطر فى صوانٍ على ردة القمح الرطبة المعقمة.

ويتبع فى هذه الطريقة استخدام صوانٍ من الألومنيوم، توضع على حوامل متحركةٍ، يحتوى كل حاملٍ على ٢٤ صينيةً. وتملأ هذه الصوانى الألومنيوم بالردة المعقمة بعد أن تبرد وتلقح بجراثيم الفطر المرغوب. وترصّ هذه الصوانى على الحامل الذى يشغل نحو نصف مترٍ مربعٍ من سطح الأرض.

وتنقل الردة التى ينمو عليها الفطر -بعد فترة تحضينٍ كافيةٍ- إلى خزانٍ يحتوى

على مادةٍ مطهرةٍ، ثم تقلب فيه جيداً، وتصفى، ويؤخذ المحلول المحتوى على معلق الجراثيم، ويوضع فى جهاز الطرد المركزى. وبعد ذلك يتم فصل الجراثيم بالترشيح خلال صوف زجاجى، وتجفف، ثم تحفظ مجمدةً لحين الحاجة إليها. وتبلغ القدرة الإنتاجية لكل صينيةٍ نحو ٧ × ١٠^١٢ جرثومةً خلال أيامٍ قليلةٍ.

وتتميز الجراثيم الفطرية بثباتها، وسهولة نقلها، واستخدامها كمادةٍ حيويةٍ مساعدة. كما أن معلق الجراثيم يكون متجانساً؛ مما يعطى معدل تحولٍ ثابتٍ للمادة المتفاعلة، وأيضاً يعطى كميةً كبيرةً من المواد الناتجة من هذا التفاعل دون أية نواتج جانبيةٍ غير مرغوبةٍ.

وبالإضافة إلى ماسبق، فإن البيئة اللازمة لإنبات هذه الجراثيم ونمو هيفاتها تكون عادةً بسيطة التركيب، وتتكون -عادةً- من محلولٍ منظمٍ، مع إضافة سكر الجلوكوز أو بدونه، ولايضاف مصدر نيتروجينى إلى البيئة؛ حتى لايساعد ذلك على التلوث البكتيرى.

ومن الممكن أيضاً حجز جراثيم الفطريات فى إحدى الدعامات؛ حيث تستخدم مثل هذه التقنية فى إنتاج كثيرٍ من المواد الهامة صناعياً؛ فعلى سبيل المثال تستخدم جراثيم الفطر ***Fusarium moniliforme*** فى تحويل **phenoxymethylpencillin** إلى حمض **6-aminopenicillic acid**، وجراثيم الفطر ***Aspergillus wentii*** فى تحليل النشا وتحويله إلى جلوكوزٍ، وأيضاً تستخدم جراثيم الفطر ***Penicillium roquefortii*** فى تحويل الأحماض الدهنية إلى ميثيل كيتونات **methylketones**، وجراثيم الفطر ***Aspergillus ochraceus*** فى مختلف التحولات الستيرويدية **steroid transforma-tions**.

ثالثاً: طرق التنمية والإنتاج:

تهتم الشركات العاملة فى مجال استخدام الفطريات فى التخمرات الصناعية بإجراء أبحاثٍ داخل معامل خاصةٍ بها؛ لتطوير التقنيات المتبعة، والبحث عن تقنياتٍ جديدةٍ، هذا بجانب قسم الإنتاج الذى يتّبع أحدث التقنيات لتغطية احتياجات السوق من المواد الناتجة من التخمرات الفطرية.

ويستخدم -عادةً- داخل معامل هذه الشركات أوعيــة تخمُّرٍ صــغيرة الحجــم، يتــم فيها إجراء الاختبارات المعملية على نطاقٍ محدودٍ؛ وذلك بغــرض اختبار إنتــاج منتجاتٍ جديدةٍ، أو تطــوير مــواد خــامٍ تســتعمل لأول مــرةٍ، أو إحــدى ســلالات الفطر الناتجة من إحداث طفــراتٍ، أو إعــادة هندســتها وراثياً، وكــذلك محــاولة إيجــاد حلولٍ لبعض المشاكل التى تواجه الإنتاج؛ وذلك بغرض رفع مستوى المنتج النهائى كماً ونوعاً.

وفى مثل هذه الحالات، يتراوح حجم وعاء التخمر المعملى بين لترٍ واحدٍ وخمسة لتراتٍ، وقد يتراوح بين عشرين لتراً وخمسين لتراً، أو بين مائة لترٍ وألف لترٍ؛ حيث يتوقف ذلك على نوع المادة المتخمرة، والغرض من الاختبار، وغير ذلك من عوامل عديدةٍ تؤثر فى مثل هذه الاختبارات؛ سواء أكانت أوليةً، أم تأكيديةً.

وعادة ماتستخدم أوعية تخمُّرٍ سعة ثلاثة لتراتٍ مصــنوعةٌ مــن الزجــاج؛ وهــى أوعيــة يسهل نقلها وغسلها وتعقيمها فى حجرات الغســيل الجانبيــة الملحقــة بالمعمــل، بينما هناك أوعية تخمُّرٍ ثابتة، لاتنقل من مكانٍ إلى آخر؛ لذلك يتــم غســلها وتعقيمها وهى فى مكانها داخل المعمل. ويتراوح حجم أوعيــة التخــمر

الثابتـة بين ٥ لتـراتٍ و ٥٠ لتراً؛ حيث تصنع -عادة- من الزجاج أو الصلب غير القابل للصدأ.

وفى أعقاب الحرب العالمية الثانية، حدثت طفرة فى صناعة أوعية التخمر، وتطورت هذه التقنية تطوراً كبيراً؛ حيث كانت التقنية القديمة السائدة هى استعمال الدوارق المهتزة **shake flasks**، أو الزجاجات ذات القاع المسطح (المفلطح) **flat bed bottles**، ثم تطورت هذه الأوعية الزجاجية إلى الأوعية ذات المقلب، واستمر التطوير حتى تم إنتاج الأوعية المصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ، وهذه الأوعية يصل حجمها إلى نحو ١٠٠ مترٍ مكعبٍ أو أكثر.

وعلى الرغم من ذلك التطوير فى تقنية التخمرات الفطرية، فإنه مازالت طريقة الدوارق الزجاجية المهتزة مستخدمةً فى معامل هذه الشركات؛ وذلك لإنتاج مادة اللقاح الأساسى (البادىء) للفطر المستخدم فى التخمر. إلا أن هذه الطريقة لاتخلو من العيوب، ولعل أهم هذه العيوب هو انخفاض معدل انتقال الأكسوجين **low oxygen transfer rate**.

وحيث إن معدل ذوبان الأكسوجين فى المحاليل المائية يقدر بحوالى تسعة أجزاءٍ فى المليون عند حرارة ٢٥°م؛ وهو معدل قليل للغاية؛ فإن ذلك يؤثر على معامل انتقاله عبر محاليل التنمية؛ حتى يصل إلى الفطر النامى فيها؛ فعلى سبيل المثال نجد أن معامل انتقال الأكسوجين **mass transfer coefficient ($k_L a$)** يختلف من وعاء تخمر إلى آخر؛ ففى أنبوبة الاختبار يساوى هذا المعامل ٢٠ لتراً/ساعة، بينما يصل إلى ٥٠ لتراً/ساعة فى الزجاجات ذات القاع المفلطح، وإلى ٥٠٠ لتر/ساعة فى الدوارق المهتزة، أما فى أوعية التخمر الصغيرة، فإن معامل انتقال الأكسوجين يصل إلى نحو ٣٠٠٠-٤٠٠٠ لتر/ساعة.

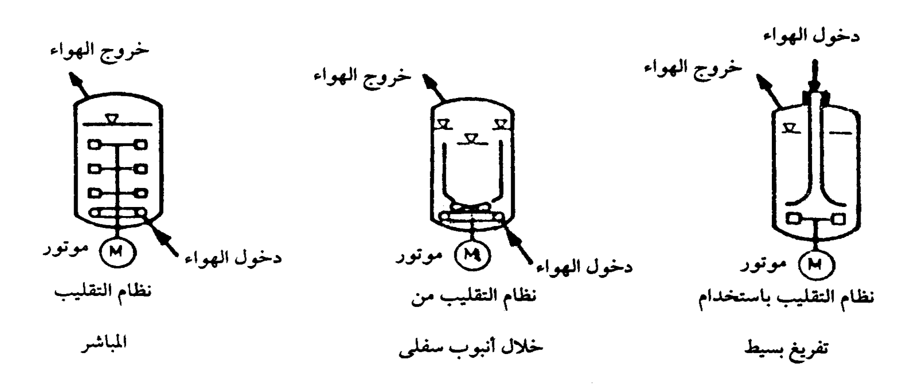
وتبعاً لما سبق، فإنه تجب مراعاة نظام توزيع الغازات (الهواء - الاكسوجين) عند

تصميم أوعية التخمر؛ حيث إنها تلعب دوراً هاماً فى معامل انتقال الأكسوجين؛ الذى يؤثر على المنتج النهائى للتخمرات الصناعية.

١ـ الأنظمة المتبعة فى توزيع الغازات:

أ ـ توزيع الغاز بالتقليب gas distribution by stirring:

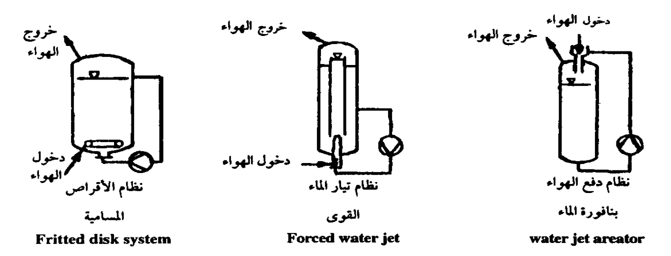
يتميز هذا النظام بسهولة إجرائه، ولذا فهو شائع الانتشار فى المصانع التى تعتمد على التخمرات الفطرية فى منتجاتها. ويتم توزيع الهواء بطرقٍ متنوعةٍ؛ ومثال ذلك: تقليب الهواء مباشرةً، أو عن طريق دخول الهواء خلال أنبوبٍ سفلىٍّ؛ حيث يستخدم ذلك فى الإنتاج التجارى. وفى النوع الثالث يتم دخول الهواء خلال أنبوبٍ علوىٍّ، ماراً إلى سطح أسلحة المقلب stirrer blades.



شكل (٢٤): الأنظمة المتبعة فى توزيع الغازات داخل أوعية التخمر عن طريق التقليب.

ب ـ توزيع الغاز بالطلمبات gas distribution through pumps:

ويتم فى هذا النظام دفع السوائل ونقلها من خلال مضخات، ثم يوزع الهواء عن طريق رشاشات أو مضخات دفع الماء بطريقةٍ تشبه النافورة water jet pump.

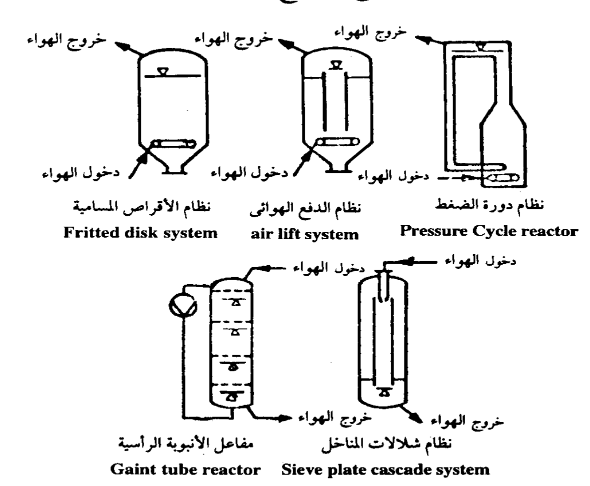


شكل (٢٥) : نظم توزيع الغازات داخل أوعية التخمر عن طريق الطلمبات.

جـ - توزيع الغاز باستخدام الهواء المضغوط :

gas distribution by means of pressurized air

يتميز هذا النظام بعدم وجود أجزاءٍ متحركةٍ فى المنطقة المعقمة؛ حيث ينتشر هذا النوع فى أوعية التخمر المستخدمة فى الإنتاج التجارى.

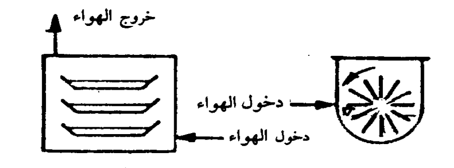


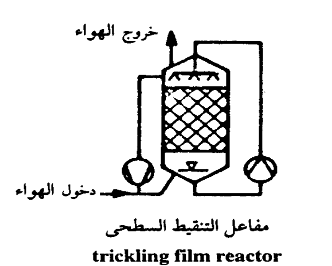
شكل (٢٦) : نظم توزيع الغازات داخل أوعية التخمر عن طريق الهواء المضغوط

د ـ توزيع الغاز بطريقةٍ مستمرة continuous gas phase :

فى هذا النظام يتم دوران الهواء حول طبقةٍ رقيقةٍ (فيلم) من الكائنات الحية الدقيقة النامية على مادةٍ حاملةٍ. وقد تكون هذه الطبقة الرقيقة عبارةً عن طبقةٍ من النموات الطافية على سطح البيئة الغذائية السائلة المستخدمة فى التخمر.

وفى بعض الأحيان تكون البيئة المستخدمة صلبةً أو نصف صلبةٍ. وفى بعض الأنظمة المستخدمة فى توزيع الغاز بطريقةٍ مستمرة تكون ريش التقليب متحركةً، أو تكون عبارةً عن أسطوانةً متحركةً داخل البيئة الغذائية. ويعتبر هذا النظام من أفضل الأنظمة المستخدمة فى التخمرات الصناعية الفطرية.





مفاعل الريش الدواره Blade wheel reactor — مفاعل الفيلم السطحى surface film reactor — مفاعل التنقيط السطحى trickling film reactor

شكل (٢٧) : نظم توزيع الغازات داخل أوعية التخمر بالطريقة المستمرة.

٢- الصفات النموذجية لوعاء التخمر :

يلعب حجم وعاء التخمر المستخدم فى الصناعة دوراً كبيراً فى الإنتاج؛ فيجب أن يكون مناسباً وكافياً لحجم البيئة المستعملة فى إنماء الفطر المناسب لهذا التخمر الصناعى، وللغازات الذائبة فى محلول البيئة؛ التى تتصاعد خلال عملية التخمر وتملأ الفراغ العلوى لوعاء التخمر، وكذلك للمواد الرغوية التى تطفو على سطح البيئة.

وفى الأوعية التى تعتمد على التقليب، يمثل حجم البيئة المستخدمة فى إنماء الفطر working volume حوالى ٨٠٪ من الحجم الكلى لوعاء التخمر، وأيضاً النسبة بين ارتفاع وعاء التخمر وقطره تتراوح بين ٢ :١ و ٣,٥ :١ .

ويفضل صناعة أوعية التخمر العملاقة من الصلب غير القابل للصدأ، كما يجب مراعاة عدم وجود ثنايا فى قاع الوعاء؛ حتى لاتتراكم فيها كمية من البيئة الغذائية تبقى ساكنةً دون تحركٍ، والتى يطلق عليها اسم المناطق الميتة dead spaces. ومن العيوب الناتجة عن وجود مثل هذه المناطق صعوبة تنظيفها وتعقيمها بعد ذلك.

أما بالنسبة إلى تعقيم وعاء التخمر، فإنه يجب أن يكون تصميمه قد روعى فيه سهولة تعقيمه وتشغيله تحت ظروف التعقيم؛ لذلك يصنع وعاء التخمر ـ عادةً ـ من الزجاج أو الصلب غير القابل للصدأ؛ حيث إن هذه المواد تتميز بتحملها للأحماض المستخدمة فى تنظيف وتطهير وعاء التخمر، والضغوط العالية أثناء عملية التعقيم.

ومن الشروط الأخرى الواجب توافرها فى وعاء التخمر أن تكون جميع الوصلات والصمامات الداخلية والخارجية مصنوعةً من مواد تتحمل التعقيم بالحرارة، ولا تتأثر بفعل المواد الكيميائية المستخدمة فى البيئة الغذائية، أو تلك الناتجة من التخمرات الفطرية.

كما يجب تزويد وعاء التخمر بفتحات دخول الهواء من خلال مرشحاتٍ تمنع دخول الميكروبات؛ مما يسمح بالتهويةَ عن طريق دفع هواءٍ معقمٍ بالترشيح. ويجب تزويد فتحات دخول الهواء بصمامٍ يمنع اندفاع البيئة الغذائية من وعاء التخمر إلى مرشح الهواء؛ وبذلك نتجنب تلوث المرشح بالبيئة الغذائية نتيجة الاندفاع العكسى.

ويراعى أن تكون فتحة خروج الهواء مصممةً بطريقةٍ تمنع التلوث الميكروبى من الهواء الخارجى، وكذلك الحال فى الفتحات الأخرى الموجودة فى وعاء التخمر؛ مثل فتحات إضافة مكونات البيئة الغذائية المستخدمة فى تنمية الفطر، وإضافة المواد المانعة لتكوين المواد الرغوية، ومواد ضبط رقم الحموضة، وغيرها من مواد تضاف أثناء عملية التخمر، وكذلك فتحة أخذ العينات الدورية لمتابعة مراحل التخمر.

ويتصل وعاء التخمر –عادةً– بعديدٍ من نظم القياس، والتى يمكن إيجازها فيما يلى:

١ـ قياس الحرارة :

يستخدم جهاز للقياس يعتمد على التغير فى المقاومة الكهربية؛ تبعاً لدرجات الحرارة المختلفة.

٢ـ قياس الضغط:

يستخدم فى ذلك أنبوب بوردو، أو جهاز يعتمد فى حساسيته على الضغط الغشائى. ويتم ذلك عن طريق قياس حركة الغشاء التى تتأثر بتغير الضغط. ويمكن استخدام أية أجهزةٍ إليكترونيةٍ أخرى.

٣ـ قياس محتوى وعاء التخمر:

لمعرفة مايحتويه وعاء التخمر من بيئةٍ غذائيةٍ، يتم قياس وزن البيئة أو معرفة حجمها باستعمال الموازين أو المكاييل المألوفة (كيلوجرام ـ لتر).

٤ـ قياس كمية الرغاوى:

يستخدم -عادةً- جهاز حساس لقياس الحجم الموجود فوق سطح البيئة من المواد الرغوية، وذلك للتحكم فى وجودها، بإضافة مواد مانعةٍ للرغاوى.

٥ـ سرعة محور الدوران :

يستخدم لذلك مقياس السرعة (تاكوميتر **Tachometer**) يعتمد على قياس توليد الكهرباء الناتجة من القوة المغناطيسية أو الضوئية.

٦ـ معدل دخول الغاز:

ويقاس بعدادٍ يحسب عدد اللفات (روتاميتر **Rotameter**).

٧ـ معدل تدفق البيئة السائلة:

ويتم قياسه عن طريق استخدام محول طاقةٍ كهربائيٍّ يعتمد على قياس معدل التدفق فى مجالٍ مغناطيسيٍّ أو كهربيٍّ.

٨- قياس رقم الحموضة وتركيز غاز الأكسوجين الذائب وتركيز غاز ثانى أكسيد الكربون الذائب: يتم ذلك من خلال استخدام إليكترودات خاصة.

٣- مراحل التخمرات الفطرية:

يمكن تقسيم عمليات التخمر -التى ينتج عنها النواتج الأولية أو الثانوية للتمثيل الغذائى للفطريات- إلى أربع مراحل؛ هى:

أ- مرحلة حفظ السلالة الفطرية:

يقصد بهذه المرحلة الاحتفاظ بالسلالة الفطرية المستخدمة فى الصناعة لفترة طويلة؛ وذلك ليس فقط بغرض المحافظة على حيويتها، ولكن أيضاً بغرض الاحتفاظ بقدرتها الحيوية على إنتاج المواد الهامة المستخدمة فى النواحى الصناعية.

فعلى سبيل المثال، تفقد كثير من السلالات الفطرية العالية الإنتاج جزءاً من قدرتها الإنتاجية خلال عمليات النقل المتتالى؛ نتيجة حدوث طفرات ذاتية؛ لذلك يجب الاحتفاظ بسلالة الفطر لأطول فترة ممكنة دون الحاجة إلى تجديدها وإعادة تنميتها على بيئة غذائية لأكثر من مرة واحدة كل سنتين أو أكثر على الأقل، مع اختبار قدرة هذه السلالة الفطرية على الإنتاج. ويطلق على هذه السلالة اسم «السلالة الأساسية **Master strain**».

وتستخدم السلالة الأساسية للفطر فى إعداد سلالة نشطة يطلق عليها اسم «سلالة الإنتاج **Working strain**». وعادة مايتم اختبار سلالة الإنتاج بصفة دورية للتعرف على درجة نقائها، ومدى حيويتها، وكفاءتها الإنتاجية.

وهناك طرق متنوعة تُتَّبع لحفظ السلالات الفطرية المستخدمة فى الصناعة، ولكل طريقة مميزاتها وعيوبها؛ فعلى سبيل المثال تستخدم التربة المعقمة لحفظ ميسليوم وجراثيم أنواع مختلفة من الفطريات ولفترات طويلة تصل إلى عدة سنوات. وتتميز هذه الطريقة باحتياجها إلى إمكانات بسيطة، مع تحقيقها نتائج جيدة، وخاصة مع

سلالات الفطريات غير المتجرثمة. ومن الممكن استخدام رملٍ معقمٍ، أو سيلكاجيل، أو أقراصٍ من الجيلاتين، أو حبيبات الخزف كبديلٍ للتربة المعقمة.

ويمكن استخدام الجلسرول كمادة حمايةٍ للنموات الفطرية، ثم تحفظ السلالات الفطرية مجمدةً على حرارة ٥٠ْم تحت الصفر. وعلى الرغم من عدم احتياج هذه الطريقة إلى مواد مكلفةٍ، إلا أن الاحتفاظ بالسلالات الفطرية تحت هذه الدرجة البالغة الانخفاض من الحرارة يكون ـ عادةً ـ باهظ التكاليف. وتتميز السلالات الفطرية المحفوظة بهذه الطريقة باحتفاظها بصفاتها لسنواتٍ طويلةٍ؛ لذا فهى شائعة الاستخدام على النطاق الصناعى؛ نظراً لصلاحيتها للفطريات المتجرثمة وغير المتجرثمة.

ومن الوسائل الأخرى المتبعة فى حفظ السلالات الفطرية طريقة التجفيد **lyophilization**، إلا أن هذه الطريقة لاتصلح للفطريات غير المتجرثمة ولا للخمائر، كما أنها طريقة مكلفة تحتاج إلى أجهزةٍ معقدةٍ وخبرةٍ عالية.

ب ـ مرحلة إعداد اللقاح (البادئ) **Inoculum preparation**:

تعتبر هذه المرحلة من المراحل الهامة فى الإنتاج؛ حيث يتم خلالها نقل سلالة الفطر من مرحلة الحفظ إلى مرحلة النمو. ويتم ذلك عن طريق نقل جزءٍ من النمو الفطرى من السلالة الأساسية **Master strain** إلى دورقٍ يحتوى على كميةٍ قليلةٍ من البيئة السائلة المعقمة، يتراوح حجمها بين ٠,٥ ملليلتراً و ٥ ملليترات.

ويحضن الدورق المحتوى على النمو الفطرى فى درجة حرارةٍ مناسبةٍ، وتراقب هذه النموات لمعرفة درجة نقائها، ومدى حيويتها ونشاطها. وبعد استكمال نمو الفطر تؤخذ أجزاء منه، وتنقل إلى سطح بيئة الآجار المائل فى أنابيب الاختبار حتي يُكوِّن الفطر جراثيمه.

وتجمع ـ بعد ذلك ـ جراثيم الفطر، وتنقل إلى زجاجاتٍ تحتوى على بيئة الآجار المائل، ثم تحضن على درجة حرارةٍ مناسبةٍ، ثم يعاد جمعها فى معلقٍ مائيٍّ، مع إضافة مادةٍ ناشرةٍ، مثل توين ٨٠ **Tween80**، أو تريتون **Triton X100**؛ بنسبة ٠,١ ٪. ويجب فحص هذا المعلق الجرثومى؛ للتأكد من نقائه وحيويته ونشاطه.

جـ ـ مرحلة الإعداد الأولي لبيئة التخمر Fermentation preculture:

يتم فى هذه المرحلة إعداد كمية مناسبة من اللقاح الفطرى مع بيئة التخمر؛ وذلك عن طريق إضافة جزء من النمو الفطرى للسلالة المرغوبة فى دورق زجاجيّ يحتوى على حوالى ٠,٥ لترًا ـ لترين من البيئة الغذائية المستخدمة فى التخمر الصناعى. ويتبع -عادةً- تقليب البيئة لفترة، ثم إضافة محتوياتها إلى وعاء تخمر صغير.

ويترك محلول البيئة الغذائية المحتوى على النموات الفطرية لفترة تحضين قصيرة؛ حيث يطلق عليه اسم المزرعة الأولية **preculture**، والتى تستخدم فى تلقيح وعاء التخمر الكبير المستخدم فى الإنتاج التجارى. وتستخدم -عادةً- نسبة تلقيح تتراوح بين ٥٪ و ١٠٪ من معلق الوحدات الفطرية **propagules** (ميسليوم ـ خلايا ـ جراثيم ـ...)، يحتوى على ١-٥ × ١٠° جرثومة (وحدة فطرية) لكل ملليلتر من البيئة الغذائية. ويجب التأكد من نقاء النموات الفطرية ونشاطها الحيوى فى جميع مراحل الإنتاج.

د ـ مرحلة الإنتاج Production fermentation:

يجب أن يكون القائمون على العمل فى هذه المرحلة على دراية كاملة بإعداد البيئات الغذائية المستخدمة فى التخمر الصناعى بواسطة الفطريات، وكيفية تعقيمها. كما يلزم أن تكون جميع مكونات البيئة على درجة عالية من الجودة، وثابتة التركيب، وخالية من الملوثات. كما يجب ضبط رقم حموضة البيئة قبل التعقيم وبعده مباشرة.

وتلزم دراسة تأثير عمليات التعقيم على جميع مكونات البيئة، ومعرفة نسبة الكربون إلى النيتروجين **C/N ratio**؛ حيث إن ذلك كله يلعب دورًا حاسمًا فى تكوين المنتج النهائى الناتج من عملية التخمر الصناعى، سواء أكان هذا المنتج من النواتج الأولية أم الثانوية للتمثيل الغذائى للفطر المستخدم.

كما يختلف حجم وعاء التخمر المستخدم فى الإنتاج تبعاً لاختلاف الناتج النهائى؛ فعلى سبيل المثال يتراوح حجم الوعاء بين مترٍ مكعبٍ واحدٍ وعشرين متراً مكعباً فى حالة إنتاج الإنزيمات العلاجية والمواد المستخدمة فى البيولوجيا الجزيئية، بينما يصل حجم وعاء التخمر إلى ٤٠–٨٠ متراً مكعباً فى حالة إنتاج بعض المضادات الحيوية، وبعض الإنزيمات الغذائية.

وفى حالاتٍ أخرى، يصل حجم وعاء التخمر إلى ١٠٠ مترٍ مكعبٍ – ١٥٠ متراً مكعباً فى مصانع إنتاج البنسلين، وإنزيمات التحليل المائى للبروتينات **proteases**، وإنزيمات تحليل النشا **amylases**، وأيضاً المصانع المهتمة بالتحولات الستيرويدية **steroid conversions**، والأخرى المنتجة للأحماض الأمينية. وقد تصل هذه الأوعية إلى أحجامٍ عملاقة؛ كما هى الحال فى حالة إنتاج البروتين الميكروبى **single cell protein**؛ حيث يصل حجم الوعاء الواحد إلى أكثر من ٤٥٠ متراً مكعباً.

ومن الأهمية بمكانٍ التحكم فى درجات الحرارة والتهوية والضغط داخل وعاء التخمر، كما يجب ضبط معدل تقليب البيئة السائلة داخله، ومعدل طفو المواد الرغوية؛ حتى يمكن الحصول على منتجٍ نهائيٍّ عالى الجودة. وعادة مايستخدم الحاسب الآلى للتحكم فى مجموع هذه العوامل؛ للوصول إلى أفضل ظروف إنتاج.

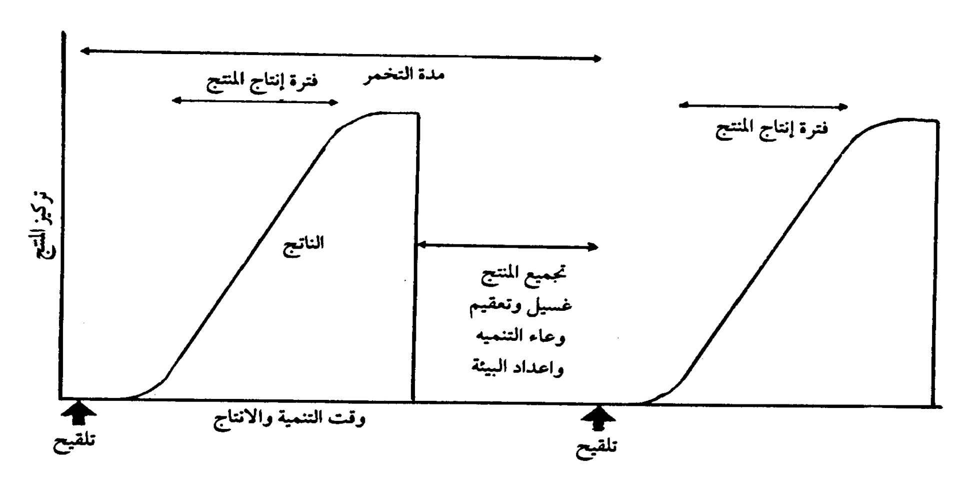
٤- تقنيات التنمية:

تستخدم عديد من التقنيات لتنمية الفطريات على محاليل البيئة الغذائية؛ منها التنمية على دفعات **batch culture**، والتنمية على دفعاتٍ متزايدةٍ **fed batch culture**. وتعتبر الطريقتان السابقتان من الطرق القديمة الشائعة الاستخدام. إلا أن هناك طرقاً أخرى أقل استخداماً، مثل تقنية التنمية المستمرة **continuous culture** التى تستعمل بصفةٍ أساسيةٍ على النطاق البحثى والمعملى.

أ- التنمية على دفعات Batch culture

يعتبر نظام التنمية على دفعاتٍ نظاماً مغلقاً لتنمية الفطر على كميةٍ محدودةٍ من البيئة الغذائية. وبعد إضافة اللقاح الفطرى، ينمو الفطر مكوناً خلايا جديدةً مستهلكاً المادة الغذائية المضافة عند بدء التنمية.

وتتميز هذه الطريقة بانخفاض تكاليها، ولكن يعيبها ارتباط معدلات الرنتاج بمعدل نمو الفطر؛ ومن ثم فإن المواد الناتجة عن التمثيل الغذائى للفطر هى جزء من دورة النمو. ويمكن تمثيل ذلك بيانياً فى الشكل التالى:-



شكل (٢٨) : رسم بيانى يوضح معدل إنتاج الفطر من المادة الهامة صناعيا وعلاقة ذلك بمعدل نموه خلال التخمر على دفعات.

ب - التنمية على دفعات متزايدة Fed batch culture :

بدأ استخدام هذا النظام من تنمية الفطريات على فطريات الخميرة مع مطلع القرن العشرين؛ وذلك للتحكم فى نمو خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae*.

ولقد وجد Crabtree (1929) أن استخدام المولت بتركيز عالٍ من بداية نمو فطر الخميرة *S.cerevisiae* تحت الظروف الهوائية يؤدى إلى تحول الخلايا إلى انتاج كحول الإيثانول، بدلاً من إنتاج كتلة حيويةٍ من خلايا الخميرة، أما إذا أضيف المولت بكمياتٍ ضئيلة، فإنه يصبح عاملاً محدداً للنمو؛ لذلك تمت إضافة المولت بكمياتٍ متزايدةٍ كل ساعةٍ؛ بحيث أصبح تركيز المولت عاملاً محدداً للنمو.

ومنذ الحرب العالمية الثانية انتشرت هذه الطريقة فى إنتاج الجليسرول والأحماض العضوية والمذيبات العضوية. والآن.. تستخدم هذه الطريقة على نطاقٍ واسعٍ فى إنتاج كثيرٍ من أنواع المضادات الحيوية كالبنسلين، وأيضاً إنتاج الفيتامينات، وهرمونات النمو، والإنزيمات، وغيرها من مواد حيويةٍ هامةٍ باستخدام الفطريات.

وفى هذه الطريقة يتم التحكم فى نمو الفطر؛ إما بطريقةٍ مباشرة، وإما بطريقةٍ غير مباشرةٍ؛ فمن خلال الطريقة المباشرة تتم إضافة كميةٍ ثابتةٍ من مصدرٍ كربونيٍ ما كل فترةٍ زمنيةٍ محددةٍ، أو بمعدل إضافةٍ ثابتٍ، أو بمعدلٍ يزيد بزيادة النمو اللوغاريتمى للفطر.

أما الطريقة غير المباشرة فيتم فيها التحكم في نمو الفطر وذلك عن طريق التحكم فى رقم حموضة البيئة، أو تركيز الأكسوجين، أو معدل التنفس وغير ذلك من عوامل مؤثرة على نمو الفطر. وتتميز هذه الطريقة بإمكانية استخدام مصادر كربونٍ مختلفة تعمل على تثبيط النمو الفطرى فى تركيزاتها العالية؛ مثل كحول الإيثانول، أو المركبات العطرية، وغيرها. كما يؤدى ذلك إلى زيادة الكتلة الحيوية للفطر.

فعلى سبيل المثال، وجد أن استخدام هذه الطريقة فى تنمية خميرة الخباز يؤدى إلى زيادة الكتلة الحيوية إلى عشرة أضعاف وزنها؛ بالمقارنة بطريقة التنمية على دفعاتٍ **batch culture**.

ومن المميزات الأخرى لطريقة التنمية على دفعاتٍ متزايدةٍ إمكانية إنتاج المنتجات الثانوية للتمثيل الغذائى للفطريات **secondary metabolites**؛ حيث إن معظم هذه

المنتجات لايرتبط تكوينها بنمو الفطر، بل يتم تكوينها خلال طور الثبات stationary phase؛ ومن ثم، يمكن زيادة معدل نمو الكتلة الحيوية، ثم يتم التحكم خلال طور الثبات بإعطاء الكمية اللازمة لحفظ حياة الفطر وإنتاج المنتج الثانوى.

كما تتميز هذه الطريقة بعدم حدوث تثبيطٍ خلفي feed back inhibition، وكذلك تقل فيها فرص التلوث بميكروباتٍ غير مرغوبة، وتقل حدوث الطفرات أو فقد البلازميد الحامل للصفات الوراثية المرغوبة، كما هى الحال فى طريقة المزارع المستمرة continuous cultures. إلا أنه يعيب طريقة التنمية على دفعاتٍ متزايدة زيادة تكاليف الأجهزة اللازمة للإضافة والتحكم، كما يجب أن يكون القائمون على العمل من ذوى الخبرة، وعلى درجةٍ عاليةٍ من الكفاءة.

جـ - التنمية بالطريقة المستمرة continuous culture:

تستخدم هذه الطريقة فى بعض الصناعات التخميرية منذ فترةٍ طويلةٍ، كما أنها تستخدم على نطاقٍ واسعٍ فى معامل البحوث لدراسة طبيعة نمو الفطريات المستخدمة فى الصناعة وتمثيلها الغذائى والمواد الناتجة منها؛ سواء الأولية، أم الثانوية، وكذلك فسيولوجيا الفطر والعوامل المؤثرة على سلوك مثل هذه الفطريات الصناعية.

وتعتمد هذه الطريقة من طرق تنمية الفطريات على إطالة الطور الوغاريتمى - log phase لنمو الفطر؛ وذلك عن طريق إضافة أحد المكونات الغذائية، وسحب حجمٍ يساوى حجم الإضافة السابقة من البيئة المحتوية على بعض الخلايا الفطرية النامية؛ وذلك حتى يظل حجم البيئة فى وعاء التخمر ثابتاً، مع ثبات معدل نمو الفطر rate of growth.

وتحت الظروف السابقة، تسود حالة من الثبات فى ظروف تنمية الفطر فى وعاء التخمر؛ مما يسبب ثبات معدل إنتاج المنتج النهائى. ويطلق على هذه الحالة اسم وضع الثبات steady state. وعلى الرغم من ميزة ثبات نمو الفطر وكمية وجودة المادة الناتجة لفترةٍ إنتاجيةٍ طويلةٍ تحت الظروف المثلى، إلا أنه يعيبها ارتفاع تكاليف الأجهزة المستخدمة، وزيادة احتمالات التلوث، والتغيرات الوراثية، وفقد البلازميد.

وهناك عديد من التقنيات المستخدمة للتنمية بالطريقة المستمرة؛ منها تقنية الثبات الكيميائى **chemostat**، وفيها يتم توفير جميع الاحتياجات الغذائية للفطر المستخدمة فى التخمر الصناعى فيما عدا أحد العناصر الغذائية الذى يكون عاملاً محدداً للنمو. وتتم إضافة هذا العنصر الغذائى عندما يصل نمو الفطر إلى حالة الثبات **steady state**؛ بحيث يكون معدل التخفيف ثابتاً، وتكون كمية البيئة المضافة معادلةً لكمية البيئة الخارجة من وعاء التخمر، ومن ثم يكون معدل التخفيف مساوياً لمعدل النمو النوعى.

أما النوع الثانى من هذه التقنيات، فهو تقنية ثبات درجة عكارة بيئة التغذية **turbi-dostat**؛ وهو من التقنيات الأقل انتشاراً؛ نظراً لصعوبة تشغيله. وفى هذا النظام تحتوى البيئة الغذائية على جميع العناصر التى يحتاج إليها الفطر وزيادة؛ بحيث تتاح له فرصة النمو حتى أقصى معدل نموٍّ نوعىّ **specific growth rate**.

ويتم التحكم فى كثافة نمو خلايا الفطر النامية فى محلول البيئة عن طريق قياس الكثافة الضوئية (درجة العكارة **turbidity**)، وتثبيتها عند كثافة الخلايا المطلوبة باستعمال خليةٍ ضوئيةٍ، والتى بواسطتها يتم إعطاء إشارة كهربية؛ بإضافة كميةٍ من البيئة عند حدوث تغيرٍ فى النمو.

ويعيب هذا النوع من التقنيات المستخدمة فى إنماء الفطر بالطريقة المستمرة احتمال عدم الدقة الناتج عن نمو الخلايا على جوانب الخلية الضوئية، كما أن فقاعات الغازات الناتجة من التخمر قد تؤثر على حساسية الخلية الضوئية فى قياس عكارة المحلول.

وبالإضافة إلى ماسبق، توجد تقنيات أخرى تستخدم فى المزارع المستمرة، لكنها أقل أهميةً من التقنيات التى سبقت الإشارة إليها؛ مثال ذلك تقنية ثبات تركيز غاز الأكسوجين **DO_2-stat**، وتقنية ثبات رقم الحموضة **pH-auxostat**، وتقنية ثبات التغذية **nutristat**، وغير ذلك من تقنياتٍ أخرى.

شكل (٢٩) : رسم تخطيطى لمزرعة مستمرة بطريقة الثبات الكيميائى Chemastat.

١ ـ مرشح البيئة . ٢ ـ وعاء البيئة المضافة .

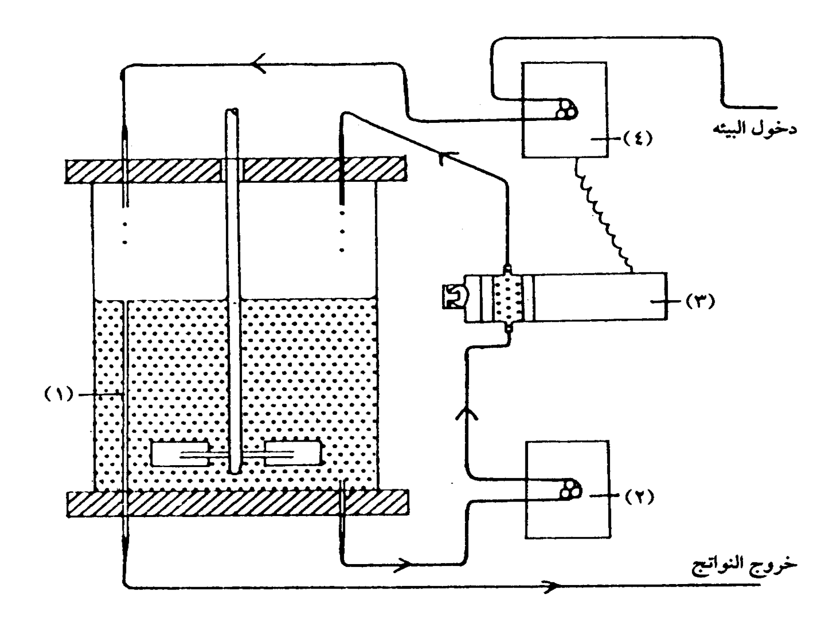
٣ ـ مقياس معدل التدفق. ٤ ـ مضخة دفع البيئة .

٥ ـ وعاء التنمية . ٦ ـ وحدة التحكم في مستوي البيئة.

٧ ـ مرشح هواء مزدوج . ٨ ـ مضخة دفع المنتج .

٩ ـ مرطب الهواء. ١٠ ـ مرشح الهواء .

١١ ـ وعاء استقبال النواتج.



شكل (٣٠) : رسم تخطيطى لمزرعة مستمرة بطريقة ثبات درجة العكارة Turbidostat .

١ ـ أنبوبة التحكم فى مستوي البيئـة.

٢ ـ مضخة دفع دائرية.

٣ ـ وحدة ضوئية للتحكم (خلية ضوئية).

٤ ـ مضخة دفع البيئة.

رابعاً: طرق الحصول على المنتج النهائى:

من أهم المشاكل التى تقابل العاملين فى مجال التخمرات الصناعية هى كيفية الحصول على الناتج النهائى فى صورةٍ نقيةٍ. وتتوقف خطوات تنقية هذا الناتج النهائى على عديدٍ من العوامل؛ منها ظروف الإنتاج، ونوعية وتركيب المنتج، وتركيزه فى البيئة، ونوعية المواد المصاحبة للمنتج النهائى، ومدى ثبات هذه المواد تحت الظروف المختلفة، ونسبة ودرجة النقاوة المطلوبة فى هذا المنتج، وغير ذلك من عوامل.

وعلى أية حالٍ، يجب مراعاة كلٍ من تركيز المنتج ودرجة نقاوته؛ حيث يجب أن تؤدى الطرق المستخدمة فى الإنتاج إلى الدرجة المثلى لكلٍّ من تركيز الناتج النهائى ونقائه؛ لذا فهناك ارتباط وثيق بين كلٍّ من العملية الإنتاجية وعمليات التنقية؛ للحصول على الناتج النهائى المرغوب.

وبناءً على ذلك، فإنه يلزم استعمال بيئةٍ غذائيةٍ مناسبةٍ للفطر المستخدم فى التخمر، كما يجب اختيار سلالةٍ ذات صفاتٍ جيدةٍ للفطر، لاينتج عن إنمائها فى البيئة تكوين نواتج ثانوية أخرى تؤثر على عمليات تنقية المنتج النهائى.

ويجب أن يؤخذ فى الحسبان أن عمليات تنقية المنتج النهائى من النواتج الأخرى الثانوية من العمليات المكلفة، والتى تؤدى ـ فى النهاية ـ إلى ارتفاع تكاليف إنتاج المنتج النهائى المرغوب بصورةٍ نقيةٍ.

وتتضمن طرق الحصول على المنتج النهائى واحدةً أو أكثر من الطرق الآتية:

١ـ الفصل الميكانيكى للخلايا من بيئة النمو.

٢ـ تكسير الخلايا؛ للحصول على المكـونات الداخليـة (فى حالة الاحتيـاج إلـى ذلك).

٣ـ الاستخلاص باستعمال المذيبات، أو البللورة، أو التبخير، أو التجفيف، أو الترشيح، أو غير ذلك من تقنياتٍ.

٤ـ الفصل الكروماتوجرافى.

وعادة مايتم فصل الخلايا الفطرية من البيئة الغذائية عن طريق الترسيب **settling**؛ حيث يترك النمو الفطرى -كما فى حالة فطريات الخميرة- حتى يترسب فى قاع وعاء التخمر بفعل الجاذبية الأرضية، دون استخدام أية مواد كيميائيةٍ مضافةٍ إلى البيئة.

وقد تستخدم طريقة التجميع **flocculation** فى فصل خلايا الفطر؛ وذلك عن طريق إضافة إحدى المواد التى تعمل على تجميع الخلايا؛ فيزداد معدل ترسبها؛ مثال ذلك إضافة الجيلاتين، أو حمض التانيك، أو أحد مركبات الأمونيوم الرباعية، أو أحد الأملاح الثنائية التكافؤ، أو بعض المواد المصنعة.

ويعيب الطريقة السابقة أنها تحتاج إلى وقتٍ طويلٍ لإتمام ترسيب خلايا الفطر فى قاع وعاء التخمر، كما أن المواد المضافة بغرض تجميع خلايا الفطر قد تؤثر على المنتج النهائى. وبالإضافة إلى ماسبق، فإن هذه الطريقة مكلفة.

ولتجنب العيوب السابقة، يفضل استخدام طريقة الطرد المركزى لفصل الخلايا الفطرية ـ سواء جراثيم، أم نمـوات هيفيـة ـ عن بيئـة النمـو. وعـادةً مايسـتخدم جهـاز الطـرد المركـزى الحلزونـى **screw-decnter centrifuge** فـى فصـل خلايا الخميـرة أو ميسليـوم الفطريات الهيفية عن البيئة الغذائية؛ سواء السائلة، أم نصف السـائلة.

وفى بعض الأحيان، يلجأ القائمون على العمل إلى استخدام أجهزة الترشيح

الغشائى، سواء أكانت على دفعاتٍ، أم بطريقةٍ مستمرةٍ. وتعتبر هذه الطريقة من أكثر الطرق المستخدمة فى فصل ميسليوم الفطريات، كما هى الحال فى إنتاج المضاد الحيوى **pencillin G** من الفطر ***Penicillium chrysogenum***.

وهناك حالات خاصة يكون فيها المنتج النهائى المرغوب عبارةً عن أحد مكونات خلايا هيفات الفطر؛ لذا يجب تكسير هذه الهيفات للحصول على ذلك المنتج. وتختلف الطرق المتبعة لتكسير خلايا هيفات الفطر؛ حيث يمكن اتّباع وسائل ميكانيكيةٍ، أو استعمال مواد كيميائيةٍ، أو قد يلجأ القائمون على العمل إلى استخدام طرقٍ حيويةٍ.

ويلخص الشكل التالى بعض الطرق المستخدمة لتكسير خلايا هيفات الفطر.

خلايا الفطر

طرق طبيعية	**طرق كيميائية**	**طرق حيوية**
* الطحن	* المعاملة بالأحماض	* المعاملة بالإنزيمات
* التجفيد	* المعاملة بالأملاح	* المعاملة بعوامل تثبيط تخليق جدار الخلايا
* تغيير الضغط الآسموزى	* المعاملة بالمذيبات	
* التجنيس	* المعاملة بالمواد ذات الجذب السطحي	
* الموجات فوق الصوتية		
* التجميد والتسييح		

وعادةً مايستخدم فى الإنتـاج الصناعـى عديـد من الطـرق الطبيعية لتكسـير خلايـا الفطر؛ بغرض الحصول على مكونات خلاياه؛ مثال ذلك التجنيس **homogen-ization**. ويتم ذلك –عادةً– بإمرار المعلق المحتوى على خلايا الفطر، أو البيئة الغذائيـة النامى فيها الفطر – من خلال فتحة ضيقـة تحت ضغط مرتفع؛ مما يؤدى إلى تكسير الخلايا.

ومن الأجهزة المستخدمة فى عمليات التكسير السابقة، جهاز الطحن الفرنسى **French press** أو مطحنة هيوز **Hughes press**. وفى بعض الأحيان يلزم طحن خلايا الفطر فى مطاحن زجاجية؛ وهى فى صورةٍ مبردةٍ أو مجمدةٍ، مع إضافة كراتٍ من الزجاج أو حبيبات الرمل أو جزيئاتٍ من البلاستيك الصلد؛ بغرضِ زيادة كفاءة عملية طحن الخلايا وتكسيرها.

كما يمكن استخدام الموجات فوق الصوتية **ultrasonic waves** فى تكسير خلايا الفطر، إلا أن ذلك قد يؤثر على المنتج النهائى، الذى يكون أكثر حساسيةً للحرارة المتولدة من مثل هذه المعاملة -وأيضاً من عمليات الطحن السابقة-؛ مما يؤثر على جودة هذا المنتج.

وفى مثل الحالات السابقة، يلجأ القائمون على العمل إلى تكسير خلايا الفطر باتباع أساليب أخرى غير طحن الخلايا، ومن أهم هذه الأساليب استعمال المواد الكيميائية.

فعلى سبيل المثال، يمكن استخدام بعض الأحماض العضوية لتكسير خلايا الكائنات الحية الدقيقة التى لاتتحمل الأحماض، وقد تستخدم بعض المواد الناشرة ذات الجذب السطحى **detergent**؛ مثل مادة توين **Tween**، ومركب **sodium lauryl sulfate**، بالإضافة إلى مركبات الأمونيوم الرباعية وغيرها، والتى تعمل على تغيير طبيعة الليبوبروتين بالغشاء السيتوبلازمى؛ مما يعمل على خروج مكونات الخلية.

وقد تستخدم بعض المذيبات العضوية؛ مثل الايزوبروبانول والأسيتون وخلات الإيثيل، والتى تعمل على إذابة الدهون الموجودة فى الغشاء السيتوبلازمى للخلية الفطرية. وفى حالاتٍ أخرى، يوضع المعلق المحتوى على خلايا الفطر فى محلولٍ عالى الآسموزية؛ مما يسبب حدوث بلزمةٍ للخلايا وتقطع الأغشية السيتوبلازمية، كما يمكن تجفيد خلايا الفطر، ثم طحنها لتكسير خلايا الميسليوم الفطرى.

وبالإضافة إلى الطرق السابقة، قد يلجأ العاملون إلى الطرق الحيوية (البيولوجية)؛

وذلك بغرض تكسير خلايا الفطر؛ للحصول على المكونات الداخلية. وتعتمد هذه الطرق البيولوجية على تحلل خلايا الفطر تحللاً ذاتيًا بفعل الإنزيمات الداخلية؛ مثال ذلك إنتاج مستخلص الخميرة ومشتقاتها. وفى حالاتٍ أخرى يمكن إضافة إنزيماتٍ من مصدرٍ خارجيٍّ تعمل على تحليل جدار الخلية، أو تثبط تكوين الجدار الخلوى، إلا أن مثل هذه الطرق باهظة التكاليف.

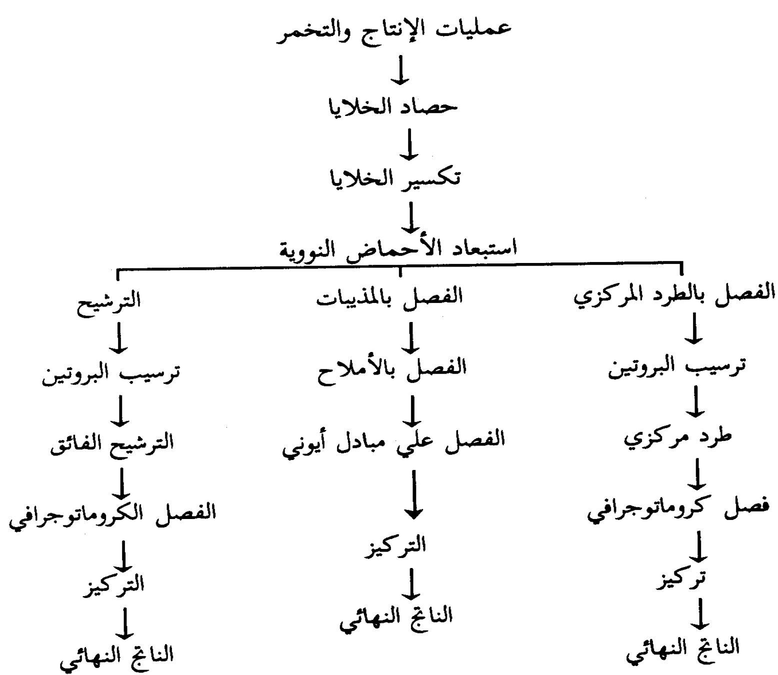
وبعد تكسير الخلايا، يتم ترسيب الأحماض النووية باستخدام مادة كبريتات البروتامين **protamin sulphate** أو المضاد الحيوى ستربتومايسين. وبعد الانتهاء من هذه المرحلة يتم الحصول على المكونات الذائبة فى خلايا الفطر.

وتتشابه طرق الحصول على المكونات الذائبة من الخلايا الفطرية مع تلك الذائبة فى البيئة الغذائية التى ينمو فيها الفطر. وتعتمد طرق الفصل على حجم الجزىء المراد فصله أو على ترسيبه أو ادمصاصه، أو على المبادلات الأيونية **ion exchange**، أو على طريقة الاستخلاص.

ومن الطرق المتبعة فى فصل المواد الذائبة على أساس حجم الجزئيات، طريقة التركيز باستخدام الآسموزية العكسية **reverse osmosis**. وفى هذه الطريقة يتم تمرير محلول البيئة الغذائية المحتوية على المادة الذائبة المراد فصلها خلال مرشح تحت ضغط، يعمل على حجز جميع الجزيئات، ماعدا الماء وبعض الأملاح الذائبة ذات الوزن الجزيئى الصغير.

وفى حالاتٍ أخرى، يمكن استخدام الترشيح الفائق **ultrafiltration**؛ حيث يمرر محلول البيئة الغذائية من خلال مرشح تحت ضغط، يحجز الجزئيات ذات الوزن الجزيئى الكبير، بينما تمر الجزئيات ذات الوزن الجزيئى الصغير. وقد تستخدم طريقة الترشيح خلال أعمدة الجيل **gel filteration**؛ حيث تنفصل مكونات المحلول تبعًا لوزنها الجزيئى خلال عمـود الجيـل؛ ومن ثم تحدث تنقيـة جزئيـة لمكونات المحلول الغذائـى؛ بحيـث تفصل كل مجمـوعةٍ ذات وزنٍ جزيئيٍّ متشـابهٍ عن المجمـوعات الأخرى.

ويمكن استخدام طريقة الترسيب **precipitation** لفصل مكونات بيئة نمو الفطر؛ وذلك باستخدام الأملاح؛ مثل كبريتات الأمونيوم، أو باستخدام المذيبات العضوية. وفى حالاتٍ أخرى يمكن اللجوء إلى تغيير رقم حموضة البيئة؛ للوصول إلى نقطة التعادل الكهربى، أو قد تستخدم مواد مجمعة **flocculating agents** تعمل على زيادة معامل الترسيب.



شكل (٣١) : بعض طرق فصل وتنقية الإنزيمات والمواد البروتينية المتكونة داخل خلايا الفطر.

وقد تستخدم طريقة الاستخلاص بالمذيبات؛ اعتماداً على مدى ذوبان المنتج فى مذيب ما دون مذيبٍ آخر. وقد تستخدم مواد تمتاز بقدرتها على الادمصاص adsorp-tion أو الامتصاص absorption ، أو تستعمل مبادلات أيونية فى حالات الفصل الدقيق لمكونات البيئة الغذائية، أو طريقة الفصل بالهجرة الكهربية electrophoresis ، وغير ذلك من طرق الفصل.

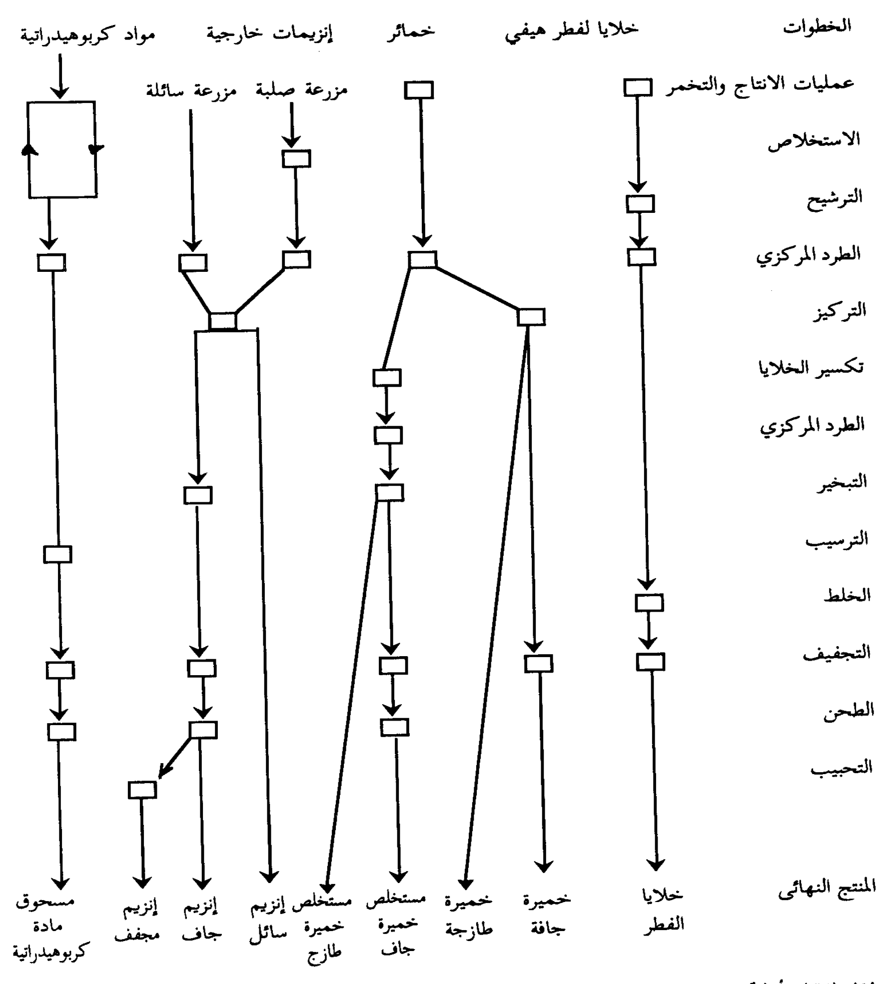
ويوضح شكل (٣١) بعض طرق فصل وتنقية الإنزيمات والمواد البروتينية المتكونة داخل خلايا الفطر، بينما يوضح شكل (٣٢) بعض طرق نقل نواتج التمثيل الغذائي الخارجية، وشكل (٣٣) أمثلة لبعض طرق فصل نواتج التمثيل الغذائي الفطرية غير المتطايرة.

ويلاحظ من الأشكال السابقة اختلاف مراحل استخلاص وتنقية المركبات المختلفة الناتجة عن التمثيل الغذائى للفطر المستخدم فى التخمر؛ ففى المواد التى تتكون داخل خلايا الفطر -مثل الإنزيمات الداخلية والمواد البروتينية الخلوية- يلزم للحصول عليها تكسير الخلايا.

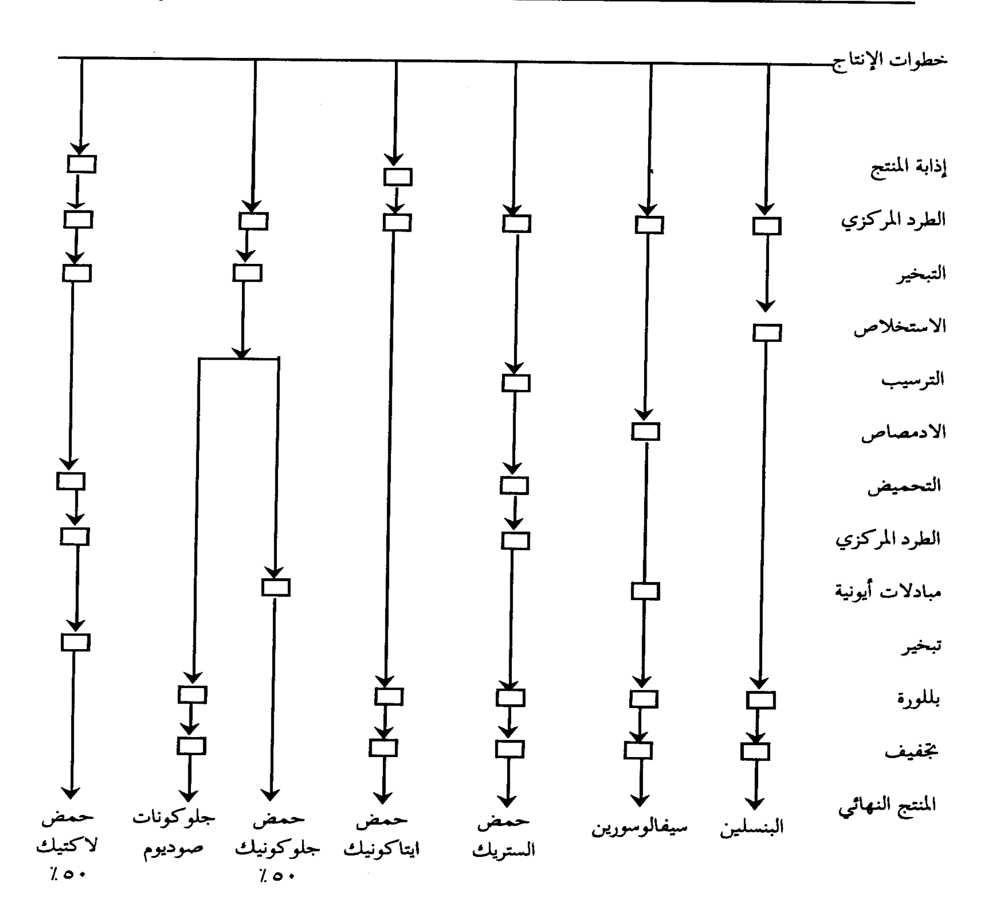
وتحتاج عملية استخلاص الأحماض النووية إلى ترسيب البروتين، أو اللجوء إلى الترشيح بأنواعه المختلفة، ثم الفصل الكروماتوجرافى بعد ذلك. وفى حالاتٍ أخرى يمكن استخدام المذيبات، ثم يتبعه الفصل الكروماتوجرافى.

وفى حالة المواد الناتجة عن التمثيل الغذائى للفطر -والتى يفرزها خارج خلاياه فى بيئة النمو؛ مثل الإنزيمات الخارجية، والسكريات العديدة- فإن هذه المواد تحتاج -أيضاً- إلى استخلاصٍ مائىّ، يتبعه الطرد المركزى؛ نظراً لارتفاع لزوجة البيئة الغذائية المحتوية على مثل هذه المواد.

وقد يلجأ العاملون فى هذا المجال إلى ترشيح البيئة الغذائية تحت تفريغ؛ كما هى الحال فى الفطريات الهيفية، أو إلى الترسيب كما فى حالة فطريات الخمائر. وبعد ذلك يمكن تجفيف الخلايا الفطرية، كما هى الحال فى إنتاج الخميرة الجافة dry yeast ، أو يتم تركيز الخلايا؛ كما هى الحال فى إنتاج الخميرة الطازجة (خميرة الخباز).



شكل (٣٢) : أمثلة لبعض طرق نقل نواتج التمثيل الغذائى الخارجية من بعض الفطريات المستخدمة فى الصناعة.



شكل (٣٣) أمثلة لبعض طرق فصل نواتج التمثيل الغذائي الفطرية غير المتطايرة.

وفى حالة الإنزيمات الخارجية، فإن المحلول الرائق الناتج بعد إجراء عملية الطرد المركزى -والذى يخلو من خلايا الفطر- يمكن استخدامه كمصدرٍ رئيسيّ للإنزيم بطريقةٍ مباشرةٍ. وقد يرسب هذا الإنزيم باستخدام الأملاح، ثم يجفف، ويحبب **granulation**. وفى حالاتٍ أخرى، يمكن تحميل هذا الإنزيم على مواد حاملةٍ أو قد يستخدم على صورته السائلة.

وبالنسبة إلى نواتج التمثيل الغذائى للفطر ذات الطبيعة غير المتطايرة، فإنه يتم الحصول عليها من نواتج الطرد المركزى للبيئة الغذائية النامى عليها الفطر، بعد تمام نموه والتخلص من خلاياه. ولكن هناك حالاتٍ أخرى يكون فيها الناتج المرغوب فى صورةٍ مترسبةٍ فى قاع وعاء التخمر؛ كما هى الحال فى حمض الإيتاكونيك **itaconic acid**، ومادة لاكتات الكالسيوم **calcium lactate**؛ لذا تجب إذابة هذه المواد قبل إجراء عملية الطرد المركزى لبيئة نمو الفطر.

وتختلف عمليات التنقية تبعاً لنوع المركب المراد فصله والحصول عليه بصورةٍ نقيةٍ. ويوضح شكل (٣٣) بعض الأمثلة لطرق فصل المنتجات الفطرية غير المتطايرة؛ مثل المضادات الحيوية -كالبنسلين، والسيفالوسبورين- وبعض الأحماض العضوية -مثل حمض الستريك والإيتاكونيك- وغير ذلك من نواتج التمثيل الغذائى للفطريات.

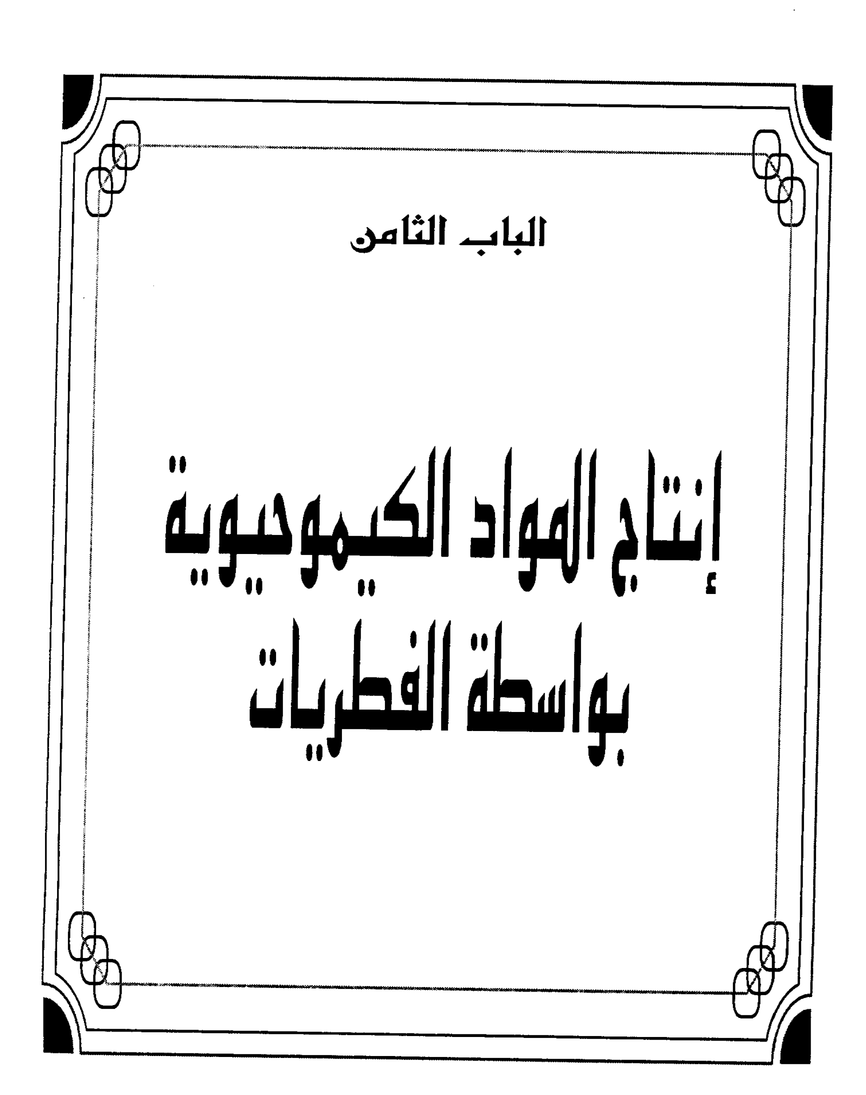
وعلى أية حالٍ، يجب حساب نسبة الفاقد خلال عمليات التنقية، والتى تختلف تبعاً لحساسية المركب الناتج. ويوضح جدول (٨) بعض الأمثلة لنسبة الفاقد فى بعض عمليات التخمرات الصناعية التى تجرى باستعمال الفطريات.

ويجب أن يؤخذ فى الحسبان -عند تقييم الإنتاج التجارى لإحدى المواد الهامة اقتصادياً والناتجة من التمثيل الغذائى للفطريات من خلال التخمر الصناعى- تكاليف المواد الكيميائية المستخدمة فى مراحل التنقية، والأجهزة المستخدمة لهذا الغرض؛ حيث إن ذلك كله -بجانب نسبة الفاقد من هذه المادة خلال عمليات الاستخلاص والتنقية- سوف يحدد سعر المنتج النهائى.

جدول (٨) : النسبة المئوية للفاقد من المنتج النهائى لبعض عمليات التخمرات الفطرية الصناعية خلال عمليات التنقية.

الناتج النهائى	نسبة الفاقد (٪)
الكتلة الحيوية	٥
المضادات الحيوية	٢٠-٥٠
الإنزيمات الداخلية	٩٠
الإنزيمات الخارجية	١٠





الباب الثامن

إنتاج المواد الكيموحيوية بواسطة الفطريات



إنتاج المواد الكيموحيوية بواسطة الفطريات

مقدمة : نواتج التمثيل الغذائي للفطريات :

تنتج الفطريات مدى واسعاً من المواد الكيموحيوية خلال تمثيلها الغذائى، يمكن اعتبار معظمها مواد هامةً لنمو الفطر، وتكوين خلايا وتراكيب جديدة - مثال ذلك الجزيئات الكبيرة الحجم الأساسية؛ مثل البروتينات، والأحماض النووية، والدهون - مما يجعل الفطريات تستكمل نموها وتنتج كتلةً حيويةً **biomass**؛ لذا يطلق على مثل هذا التمثيل الغذائى اسم «التمثيل الغذائى الأولى **primary metabolism**».

وعندما يستكمل الفطر نموه - مكوناً مستعمرةً كبيرةً - تنمو خيوطه الهيفية ممتدةً ناميةً على مناطق جديدة؛ للحصول على مزيدٍ من العناصر الغذائية التى تضمن استمرار نموه ونشاطه. وخلال هذه المرحلة النشطة من نمو الفطر، فإنه يكوّن بعض المواد الناتجة من هذا التمثيل الغذائى الأولى، والتى يطلق عليها «النواتج الأولية للتمثيل الغذائى **primary metabolites**».

وعندما يتعرض النمو الفطرى لظروفٍ ما تؤدى إلى تثبيطه وعدم استكماله (مثل نقص العناصر الغذائية، أوغير ذلك من عوامل)، فإن هذه النواتج الأولية تتراكم فى البيئة. وبعض هذه النواتج الأولية الناتجة من التمثيل الغذائى للفطريات ذات أهمية اقتصاديةٍ بالغةٍ للإنسان؛ مثل بعض الأحماض العضوية؛ كحمض الستريك الذى

يستعمل فى صناعة عديدٍ من أنواع الأغذية والمشروبات غير الكحولية؛ كما يدخل فى صناعة الأدوية.

ومن النواتج الأولية الأخرى الناتجة من التمثيل الغذائى للفطريات - والتى تنتجها خلال مرحلة نشاطها - بعض الكحولات الهامة اقتصاديًّا؛ مثل كحول الإيثانول الذى يستعمل فى إنتاج المشروبات الكحولية وبعض الأدوية.

ويؤدى استهلاك النمو الفطرى النشط للعناصر الغذائية الموجودة فى بيئة النمو - سواء أكانت البيئة الطبيعية التى ينمو فيها الفطر، أم تلك البيئة الغذائية المجهزة لنموه فى المعمل - إلى تقليل هذا النمو، بينما تعمل خلايا ميسليوم الفطر تحت هذه الظروف على تحويل مسارات تمثيلها الغذائى؛ حيث تسلك مساراتٍ كيموحيوية غير مألوفةٍ للفطر؛ مما يمنع من التسمم الذاتى، ويحافظ على الآلية الكيموحيوية للخلايا **cell biochemical machinary**،

وعند هذه المرحلة من ثبات نمو الفطر **stationary phase** تتحول المواد المتراكمة عن التمثيل الغذائى الأولى - ويقصد بها النواتج الأولية **primary metabolites** - وكذلك تتحول المركبات الوسطية **intermediate compounds** إلى منتجات أخرى مختلفة يطلق عليها اسم «النواتج الثانوية للتمثيل الغذائى **secondary metabolites**».

ولا تتكون هذه النواتج الثانوية خلال النمو النشط للفطر في معظم الأحيان، كما أنها ليست ضرورية لانقسام الخلايا وتكوين نمواتٍ فطريةٍ جديدةٍ، ولا للتكاثر المعتاد للفطر، ولكنها تتكون بعد فترة من نمو الفطر، عندما يتعرض لظروفٍ معينةٍ يتوقف نموه بسببها.

وبعض هذه المواد الناتجة من التمثيل الغذائى الثانوى للفطر عبارة عن جزيئاتٍ معقدةٍ **complex molecules**، يتم تكوينها عندما يكون النمو الفطرى غير نشطٍ. وقد يتزامن تكوين مثل هذه المواد مع تكوين الفطر لجراثيمه فى بعض الحالات.

وتمثل عديد من هذه النـواتج الثانويـة التى تنتجهـا الفطريـات أهميـة كبيـرة لحيـاة الإنسان؛ ومثال ذلك المضادات الحيوية والإنزيمات والفيتامينات، إلا أن بعضها شديد الخطورة؛ مثل التوكسينات الفطرية **mycotoxins** التى تضر بصحة الإنسان والحيوان.

وتتشابه معظم الفطريات فى تكوينها للمواد الأولية الناتجة من التمثيل الغذائى؛ ويرجع ذلك إلى أن التخليق الحيوى للوحدات البنائية المكونة لهيفات الفطريات المختلفة متشابه إلى حدّ بعيدٍ. وعلى الرغم من اختلاف المدى الغذائى الذى يمكن أن تنمو عليه الفطريات فى الطبيعة، إلا أن هذه الفطريات قد حباها الله – سبحانه وتعالى – قدراتٍ عظيمةً لتحويل هذه المواد الغذائية المتباينة عبر مسارات التمثيل الغذائى الأولى؛ لتكوين نفس الوحدات البنائية.

وعندما يتعرض الفطر لبعض العوامل التى تحد من نموه وتقلل من نشاطه، فإن ذلك يؤدى إلى تراكم نواتج التمثيل الغذائى الأولى وبعض المركبات الوسطية فى بيئة النمو. ولقد اعتمد الإنتاج التجارى للمواد الناتجة من التمثيل الغذائى الأولى والثانوى للفطريات على هذه الظاهرة، واستغلها إلى أبعد الحدود (جدول ٩).

فعلى سبيل المثال، أمكن إنتاج حمض الستريك تجاريًا بكمياتٍ تصل إلى عدة مئات من آلاف الأطنان سنويًا؛ وذلك كناتجٍ أوليّ للتمثيل الغذائى للفطر ***Aspergillus niger***.

ويمكن الحصول على حمض الستريك فى المعمل بتنمية الفطر ***A. niger*** على الجلوكوز كبيئةٍ للنمو، إلا أن ذلك يعتبر باهظ التكاليف عند إنتاج هذا الحمض على نطاقٍ تجاريّ؛ لذا يستخدم المولاس المتخلف من صناعة سكر القصب لهذا الغرض.

وتتبع تقنية التنمية على دفعاتٍ **batch culture** فى إنتاج حمض الستريك؛ حيث

يخفض رقم حموضة البيئة الغذائية (المولاس) إلى رقم -٢,٠؛ فيؤدى ذلك إلى انخفاض معدل نمو الفطر؛ نظراً لانخفاض الحموضة؛ حيث إن رقم الحموضة المناسب حوالى ٥-٦. وفى هذه الحالة يقوم الفطر بتحويل السكر إلى حمض ستريك، دون أن يمثلة غذائياً. ويؤدى ذلك إلى تراكم الحمض فى بيئة نمو الفطر دون استهلاكِ.

وتعتبر هذه التقنية فى إنتاج حمض الستريك باستعمال الفطر ***A. niger*** تقنيةً فى غاية الحساسية للتوازن بين العناصر الغذائية فى بيئة نمو الفطر، كما تلعب المعادن النادرة **trace metals** دوراً هامّاً فى هذا التوازن.

فإذا كان تركيز الحديد أو المنجنيز مرتفعاً جدّاً فى البيئة الغذائية للفطر، تكونت مواد أخرى غير مرغوبةٍ بدلاً من حمض الستريك، وتراكمت فى البيئة؛ لذا فإنه يجب التحكم فى مكونات البيئة الغذائية النامى فيها الفطر؛ للحصول على المادة المرغوبة.

ومن ناحيةٍ أخرى يمكن تقسيم المواد الناتجة من التمثيل الغذائى للفطريات إلى مواد يشيع إنتاجها كنواتج للتمثيل الغذائى **gneral metabolites** .. وهذه المواد تنتجها أنواع عديدة من الفطريات، ومواد أخرى متخصصةٍ **specialised metabolites** تنتجها أنواع محددة من الفطريات دون غيرها.

ومن أمثلة المواد الشائع إنتاجها فى الفطريات: حمض الستريك، وكحول الإيثانول، بينما يعتبر إنتاج البوليولان **pullulan** أحد نواتج التمثل الغذائى المتخصصة التى تنتجها أنواع محدودة من الفطريات. ويرتبط إنتاج هذه المواد الأخيرة بالتمثيل الغذائى الثانوى لبعض الفطريات.

وقد يؤدى التحكم فى ظروف البيئة الغذائية - التى يُنمى عليها فطر ما - إلى منع إنتاج أحد نواتج التمثيل الغذائى؛ سواء الأولية، أم الثانوية، أو قد يؤدى ذلك إلى زيادة إنتاجها زيادةً فائقةً. كما أن معدل إضافة السكريات أثناء نمو الفطر قد يؤثر على إنتاج

النواتج الأولية للتمثيل الغذائى له، ولكن ذلك لايؤثر – فى معظم الحالات – على النواتج الثانوية.

ويمكن التحكم فى قدرة الجينات على تعديل التمثيل الغذائى الثانوى للفطر؛ وذلك بواسطة التحكم فى الإمداد الغذائى فى بيئة النمو؛ من خلال نوع العناصر الغذائية وتركيزها؛ حيث يؤدى نقص بعض العناصر الغذائية الأساسية الهامة إلى انخفاضٍ فى معدل نمو الفطر؛ مما يشجع التمثيل الغذائى الثانوى.

وعلى العكس مما سبق، فإن توفير قدرٍ كافٍ من المصادر الكربونية البسيطة كالجلوكوز، والمصادر النتروجينية مثل الأحماض الأمينية.. يؤدى إلى تشجيع نمو الفطر، وزيادة التمثيل الغذائى الأولى واستمراره؛ مما يزيد من الكتلة الحيوية للفطر.

وهكذا، فإن المركبات الغذائية التى يقوم الفطر بتمثيلها غذائيًا ببطء – مثل النشا، أو اللاكتوز – تؤدى إلى انخفاض معدل نمو الفطر وتشجيع تكوين النواتج الثانوية للتمثيل الغذائى. وفى بعض الحالات يؤثر وجود معادن معينةٍ على التمثيل الغذائى الثانوى للفطر.

ويعتبر خفض معدل النمو – والذى ربما يرتبط بالإمداد الغذائى – من الأهمية بمكانٍ لإنتاج المواد الثانوية الناتجة من التمثيل الغذائى؛ حيث يتم تكوين مثل هذه المواد عندما يتوقف فعل الإنزيمات المسئولة عن التخليق، أو عندما يزداد مستوى تكوين المنتج؛ حيث يؤدى ذلك إلى تثبيط إنتاجه فيما يعرف باسم التثبيط الرجعى **feed back inhibition**.

وهناك عديد من المواد التجارية الناتجة عن التمثيل الغذائى الثانوى لبعض الفطريات؛ مثال ذلك المضادات الحيوية، كالبنسلين الناتج عن الفطر ***Penicillium chrysogenum***، والسيفالوسبورين الناتج عن الفطر ***Cephalosporium acremonium*** والجريسيوفولفين الناتج عن الفطر ***Penicillium griseofulvum*** .

وبالإضافة إلى ما سبق، فإن بعض الفطريات (مثل *Claviceps purpurea*) ينتج مواد قلويدية **alkaloides** ذات أهمية طبية عالية.

جدول (٩) : أمثلة لبعض نواتج التمثيل الغذائى الأولى والثانوى للفطريات التى يتم إنتاجها صناعياً.(عن Wainwright, 1992) .

نواتج التمثيل الغذائى	نوع الفطر
الأولي :	
كحول الإيثانول	*Saccharomyces cerevisiae*
حمض الايتاكونيك	*Aspergillus terreus*
حمض الجلوكونيك، حمض الستريك	*A . niger*
اليتامينات (الريبوفلافين)	*Ashbya gossypii*
السكريات المعقدة (سكليروجلوكان)	*Sclerotium rolfsii*
(بوليولان)	*Aureobasidium pullulans*
الثانوي :	
المضادات الحيوية (البنسيلين)	*Penicillium chrysogenum*
(السيفالوسبورينات)	*Cephalosporium acremonium*
قلويدات الأرجوت	*Claviceps purpurea*
سيكلو سبورين	*Trichoderma polysporum*
الجبرلينات	*Fusarium moniliforme*

ويتم التحكم فى إنتاج بنزيل البنسلين **benzyl penicillin** من الفطر ***P. chrysoge-num*** ؛ وذلك بإضافة الجلوكوز إلى بيئة التغذية؛ لتشجيع نمو الفطر، وتكوين كتلةٍ حيويةٍ كبيرةٍ، بينما يضاف سكر اللاكتوز؛ لتشجيع تكوين النواتج الثانوية للتمثيل الغذائى للفطر؛ وأهمها المضاد الحيوى.

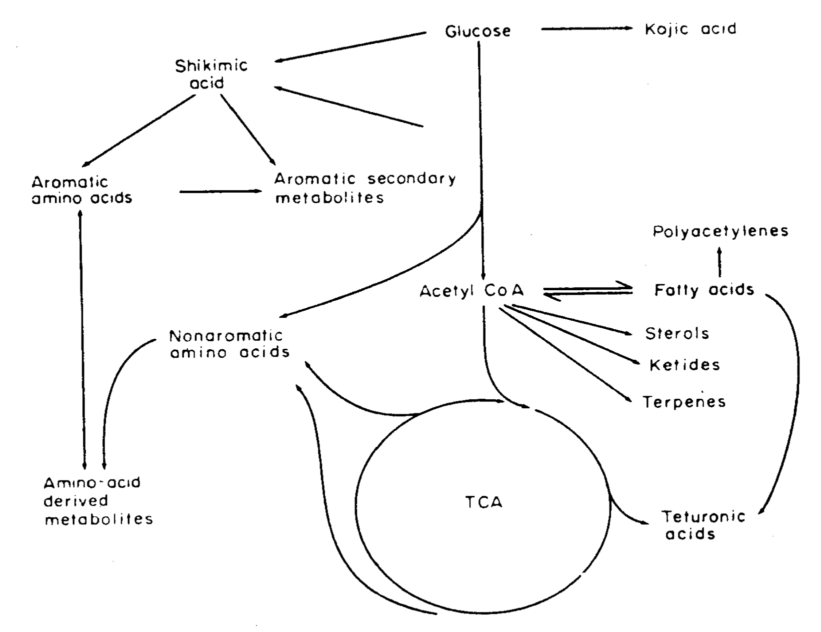
وبالإضافة إلى السكريات المضافة إلى البيئة الغذائية للفطر، تضاف مواد مشجعة للنمو **growth factors**، ومواد أولية **precursors**؛ لتشجيع تكوين نواتج التمثيل الغذائى الثانوى للفطر.

وفى الإنتاج التجارى للبنسلين، تستخدم بعض المواد المتخلفة عن الصناعات الغذائية الرخيصة الثمن؛ مثل المواد المتخلفة عن صناعة النشا من الذرة **corn-steep liquor**، بالإضافة إلى بعض الأملاح المعدنية الهامة لنمو الفطر وتمثيله الغذائى؛ وذلك لإنتاج البنسلين على نطاقٍ واسعٍ.

وفى التجارب المعملية، أمكن التحكم فى إنتاج بنزيل البنسلين عن طريق إضافة الجلوكوز بمعدلاتٍ بسيطةٍ إلى بيئة تغذية الفطر؛ حيث يحقق ذلك إنماء الفطرِ وتكوين كتلةٍ حيويةٍ تنشط التمثيل الغذائى الأولى، إلا أن معدل النمو يكون بسيطاً؛ مما يشجع تكوين النواتج الثانوية للتمثيل الغذائى.

وعلى ذلك، فإن التحكم السليم فى ظروف البيئة الغذائية التى ينمو فيها الفطر تؤثر تأثيراً مباشراً فى كمية المواد الناتجة من التمثيل الغذائى للفطر، سواء أكانت مواد أوليةً، أم ثانويةً؛ فعلى سبيل المثال يعتبر إنتاج البنسلين حساساً لرقم حموضة البيئة الغذائية، ولدرجة حرارتها، ولتوليفة العناصر الغذائية الموجودة بها.

وقد عمد القائمون على تطوير إنتاج البنسلين إلى إحداث طفراتٍ فى سلالات الفطر ***P. chrysogenum***، واختيار أفضل هذه الطفرات؛ حتى أدى ذلك إلى زيادة كمية البنسلين المنتجة تحت ظروف الإنتاج التجارى؛ لتغطية الاحتياجات المتزايدة عليه.



شكل (٣٤) : العلاقة بين دورات التمثيل الغذائى الأولى والثانوى فى الفطريات.

ومن المعروف أن النواتج الثانوية للتمثيل الغذائى للفطريات ليست ضرورية لنموه، ولكنها تتكون تحت ظروفٍ خاصةٍ نتيجة مسارات التمثيل الغذائى الثانوى، إلا أن كثيراً من هذه المواد ذات أهميةٍ خاصةٍ لصحة الإنسان؛ نظراً لنشاطها المضاد للفطريات **antifungal activity** والمضاد للبكتيريا **antibacterial activity**؛ مثل المضادات الحيوية، والتوكسينات الفطرية، وغيرها.

وعلى ذلك فإننا يمكننا اعتبار بعض النواتج الثانوية للتمثيل الغذائى للفطريات جزءاً من وسائل المنافسة بين هذه الفطريات وما يحيط بها من أحياءٍ أخرى؛ حيث تعمل هذه النواتج الثانوية كأسلحةٍ هجوميةٍ تثبط نمو الأحياء المجاورة، وربما تقتلها.

وقد تكون مثلُ هذه المواد السابقة ذات النشاط المضاد للأحياء الدقيقة – والتى يفرزها أحد الفطريات كنواتج ثانويةٍ لتمثيله الغذائى – مؤثرةً عليه هو الآخر؛ نظراً لحساسيته لمثل هذه المواد؛ ولذلك نلاحظ أن معظم هذه الكائنات الحية الدقيقة – ومنها الفطريات بطبيعة الحال – مزودة بآلياتٍ معينةٍ تمنع تأثرها بما تفرزه هى من مواد مضادةٍ للحيوية.

وفى معظم الحالات، فإن هذه المركبات التى تنتجها الفطريات – كنواتج ثانوية للتمثيل الغذائى – يتم تكوينها بعد أن يكون الفطر قد أنهى مرحلة نموه النشط. وفى ذلك الوقت فإن الميسليوم الفطرى تكون لديه المقدرة على إزالة سمية المركبات المضادة للحيوية، أو على الأقل تمنع دخول هذه المركبات إلى داخل خلايا هيفات الفطر عن طريق تغيير النفاذية الاختيارية للغشاء السيتوبلازمى.

أولاً: إنتاج الأحماض العضوية:

١- إنتاج حمض الستريك:

يستعمل حمض الستريك **citric acid** فى عديدٍ من الصناعات الغذائية؛ مثل إنتاج المشروبات غير الكحولية **soft drinks** وعصائر الفواكه ومركزاتها، والجبن المطبوخ والحلويات والمثلجات القشدية والمربات والجيلى؛ بالإضافة إلى استخدامها مع مخاليط المواد الحافظة؛ حيث يمثل استخدام حمض الستريك فى الصناعات الغذائية نحو ٦٠٪ من جملة إنتاجه.

ويصل ما يستخدم من حمض الستريك فى صناعة الأدوية إلى نحو ١٠٪ من إنتاجه الكلى؛ حيث تستخدم فى صناعة الأملاح الفوارة **effervescent salts**، كما تستخدم سترات الحديد فى صناعة العقاقير الطبية كمصدرٍ للحديد.

ويستخدم حمض الستريك أيضاً فى حفظ الدم وبعض منتجاته مثل البلازما، وكذلك فى صناعة الأقراص والمراهم الطبية والكريمات، وبعض مستحضرات التجميل الأخرى. وبجانب ذلك يستعمل نحو ربع الإنتاج الكلى من حمض الستريك فى صناعة المواد المانعة للرغوة، والتى تستعمل فى التخمرات الصناعية.

وبالإضافة إلى ما سبق، هناك استخدمات أخرى لحمض الستريك؛ مثال ذلك صناعة المرايا الفضية، وأحبار الطباعة، وصناعات التعدين، بجانب استعماله فى إعداد المنظفات الصناعية كبديلٍ للبولى فوسفات التى تعتبر إحدى المواد الملوثة للبيئة.

وكان المصدر الطبيعى لحمض الستريك هو ثمار الفاكهة - مثل الموالح والكمثرى والأناناس وغيرها - حتى نهاية القرن التاسع عشر، ثم اتجه الإنسان للبحث عن مصادر أخرى بديلةٍ بعد ذلك، وخاصةً بعد زيادة الطلب عليه.

ويعتبر Wehmer (1893) أول مَنْ بدأ إنتاج حمض الستريك صناعيًا باستخدام الفطريات؛ خاصة بعض الأنواع التابعة للجنس *Penicillium*، وبعد ذلك بسنواتٍ استطاع Zahorski (1913) إنتاج هذا الحمض باستعمال الفطر *Sterigmatocystis nigra*؛ الذى عرف بعد ذلك بأنه الفطر *Aspergillus niger*.

ولقد كان الباحثان Tom & Currie (1916) أول من قاما بإثبات أن الفطر *A. niger* يمكنه إنتاج حمض الستريك صناعيًا عن طريق تقنية التخمر السطحى. وفى عام ١٩١٧ نشر Currie بحثاً عن استخدام مواد نقيةٍ فى إعداد بيئة للإنتاج التجارى لحمض الستريك باستخدام نفس الفطر، وأثبت أهمية استخدام ٠,٠١ جرام كبريتات حديدوزٍ لإنتاج كميةٍ وفيرةٍ من الحمض.

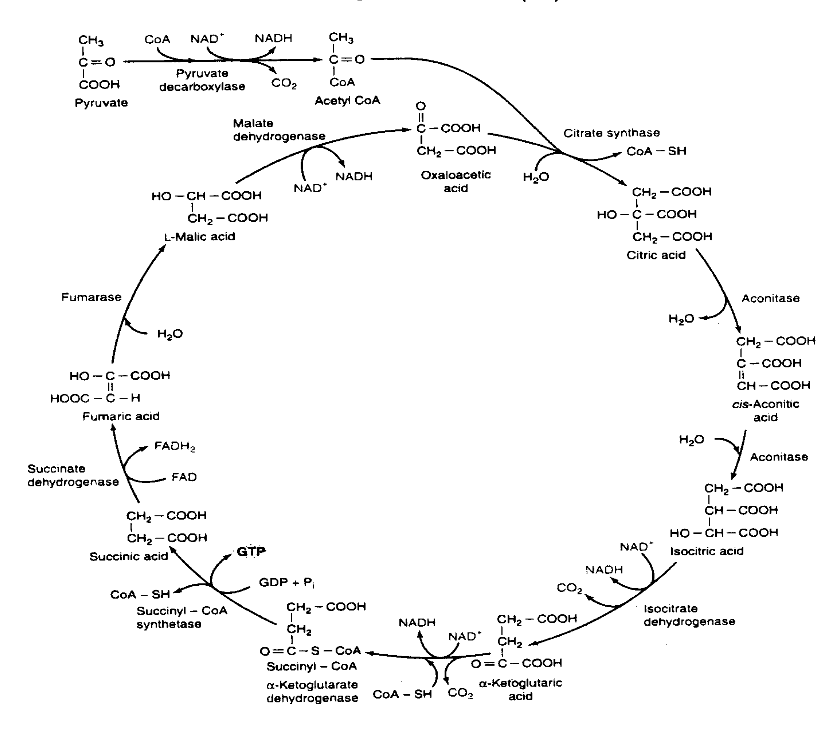
وفى البحث السابق، أوضح Currie أن إنتاجية حمض الستريك تزداد عندما ينخفض معدل نمو الفطر فى بيئة النمو، ثم طور Doelgar (1934) صناعة حمض الستريك بعد ذلك.

وأنتج حمض الستريك بصورةٍ تجاريةٍ لأول مرةٍ عام ١٩٢٣ عن طريق شركة فايزر. وكان الإنتاج العالمى لحمض الستريك عن طريق التخمرات الفطرية يقدر بنحو خمسة آلاف طنٍّ عام ١٩٢٩، وهو يصل الآن إلى حوالى ٥٥٠ ألف طنٍّ؛ يتم إنتاجها باتّباع تقنية التخمر السطحى، أو التخمر العميق فى أوعية تخمّرٍ عملاقةٍ يصل حجمها إلى نحو ٢٢٠ متراً مكعباً.

وقد قامت عديد من الشركات العالمية فى ألمانيا وإيطاليا واليابان والتشيك بتطوير إنتاجها من حمض الستريك؛ وذلك بالاعتماد على طريقة Currie (1917)، مع استبدال الجلوكوز بالمولاس، والاهتمام بالتهوية، وإضافة الأملاح المعدنية لتحسين الإنتاج كمّاً ونوعاً.

$$
\begin{array}{l}
\quad\;\; CH_2-COOH \\
\quad\;\;\; | \\
HO-C-COOH \\
\quad\;\;\; | \\
\quad\;\; CH_2-COOH
\end{array}
$$

شكل (٣٥) : التركيب الكيميائى لحمض الستريك.

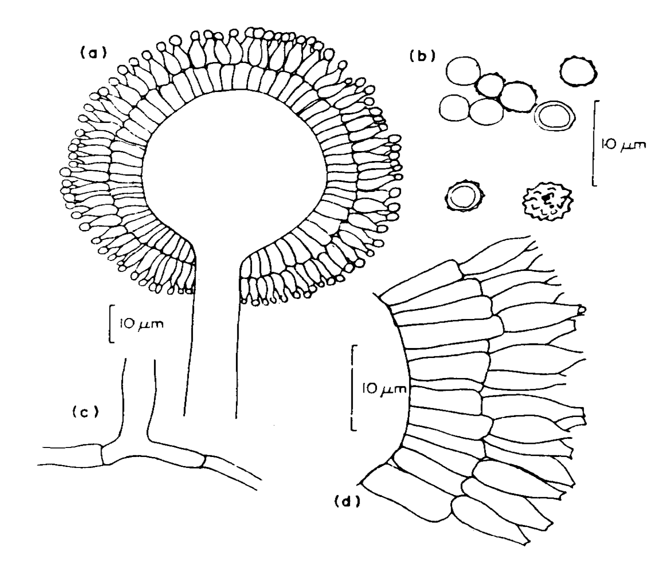


شكل (٣٦) : دورة الأحماض العضوية الثلاثية الكربوكسيل

. Tricarboxylic acid cycle (TCA cycle)

ويتركب حمض الستريك من ثلاث مجموعات كربوكسيل، ومجموعة هيدروكسيل واحدة، وهو من المركبات الهامة فى دورة كربس (دورة الأحماض العضوية الثلاثية الكربوكسيل **Tricarboxylic acid cycle**) .

وهناك نوعان من الفطريات يُستخدمان بصفة عامة فى إنتاج حمض الستريك، يتبعان الجنس ***Aspergillus***؛ هما: ***A. niger*** و ***A. wentii*** (شكلى ٣٧ و ٣٨)، بالإضافة إلى بعض الخمائر؛ مثل ***Saccharcomycopsis lipolytica*** التى تستخدم مواد غير سكرية لإنتاج هذا الحمض.

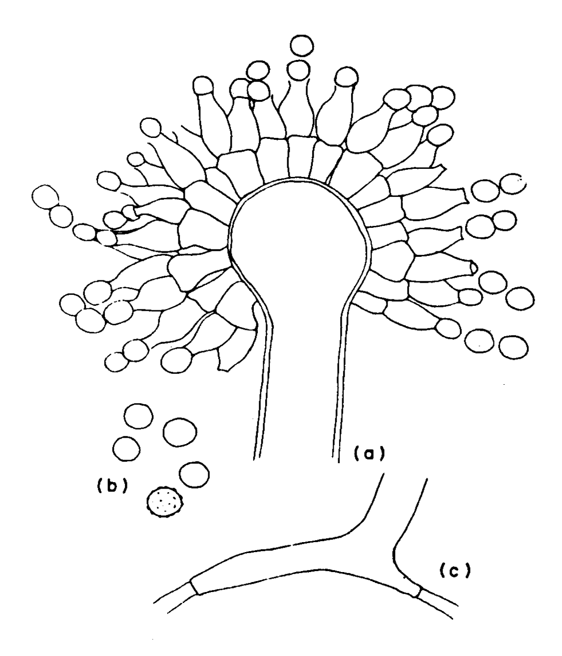


شكل (٣٧) : الفطر *Aspergillus niger*

(a)- الرأس الكونيدى conidial head.

(b)- كونيديات conidia . (c)- خلية القدم foot cell.

(d)- الفريعات القاعدية metulae والقارورات phialides.



شكل (٣٨) : الفطر *Aspergillus wentii*
(a)- الرأس الكونيدى conidial head
(b)- كونيديات conidia.
(c)- خلية القدم foot cell.

١- تركيب حمض الستريك:

يوضح شكل (٣٥) التركيب الكيميائى لحمض الستريك؛ وهو عبارة عن حمض٢- هيدروكسى - ٣،٢،١ بروبان تراى كربوكسيليك. ولقد أمكن الحصول على هذا الحمض متبلوراً فى صورتين: الأولى لامائية **anhydrous**، والثانية تحتوى على جزىء ماءٍ **monohydrate**.

ويتم الحصول على بلورات حمض الستريك اللامائية؛ وذلك عن طريق بلورته عند حرارة ٣٦,٦°م، بينما يمكن الحصول على البلورات المائية بالبلورة على درجة حرارة أقل. ويفضل - على المستوى الصناعى - استخدام البلورات اللامائية لحمض الستريك، وخاصةً فى الخاليط الجافة dry mix؛ وذلك لتجنب تعجن المخلوط أثناء التخزين.

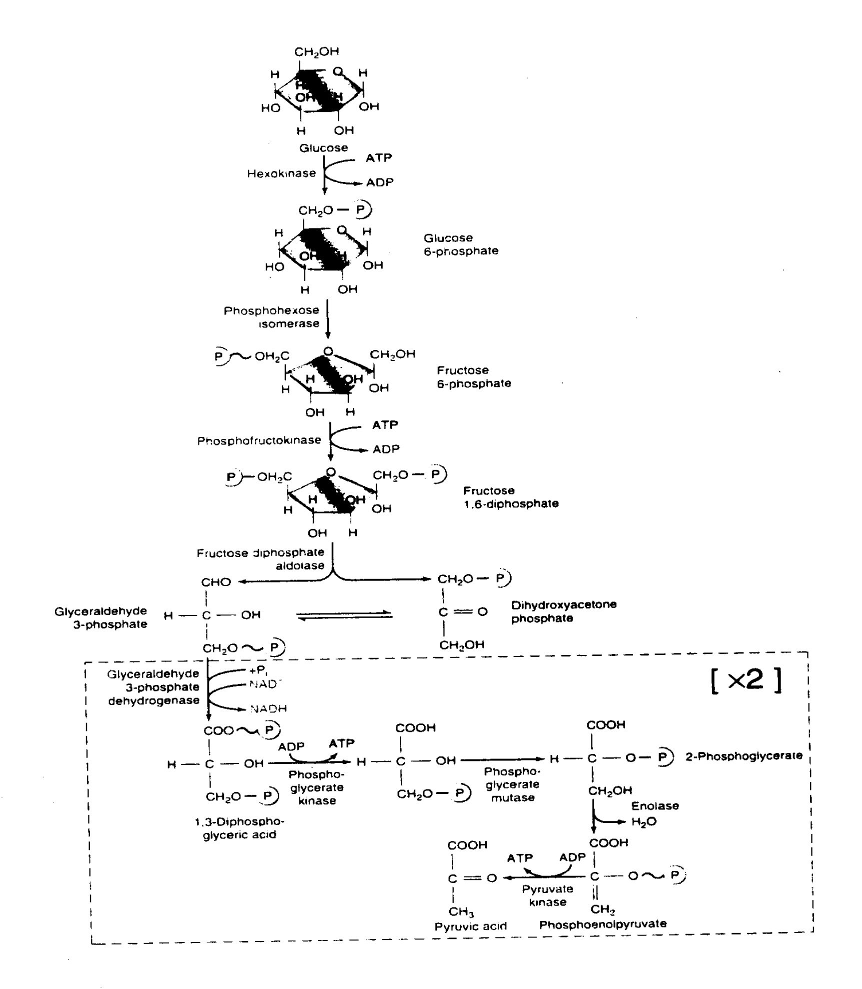
ب- تخليق حمض الستريك:

يتم تخليق حمض الستريك فى معظم الكائنات الحية المنتجة له من الجلوكوز؛ حيث نجد أن ٨٠٪ من الجلوكوز الموجود فى البيئة الغذائية، يتم تحليله عن طريق دورة الجلكزة Glycolysis (Embden-Meyerhof pathway) (شكل ٣٩)، بينما يتم تحليل ٢٠٪ من الجلوكوز عن طريق دورة السكريات الخماسية المفسفرة pentose phosphate pathway (شكل ٤٠).

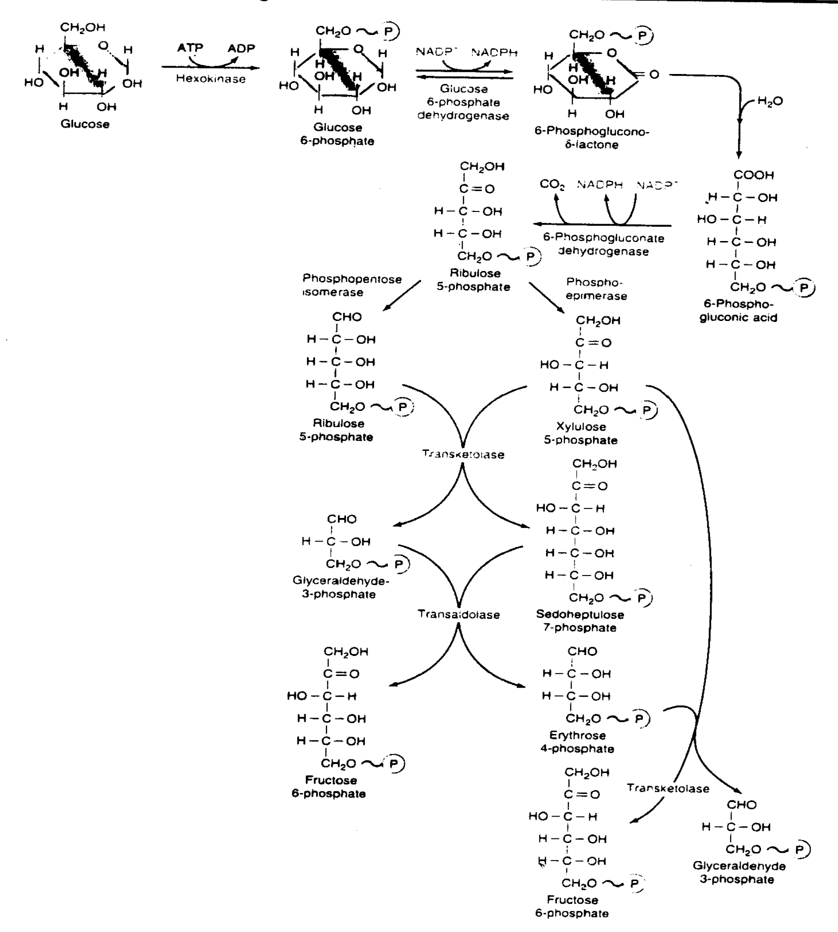
وخلال فترة نمو الفطر على البيئة الغذائية، فإنه يسلك خلال تمثيلة الغذائى للجلوكوز مسارات دورة الجلكزة، التى تكون فى أوج نشاطها خلال هذه المرحلة من نمو الفطر؛ بحيث يصل نشاطها إلى ضعف نشاط دورة السكريات الخماسية المفسفرة.

ولكن تختلف المسارات الحيوية التى يسلكها الفطر خلال تمثيله الغذائى للجلوكوز فى مرحلة إنتاجه لحمض الستريك؛ وذلك بفعل النشاط التنظيمى للإنزيمات؛ فعلى سبيل المثال تتوفر جميع الإنزيمات المشاركة لدورة السكريات الخماسية المفسفرة خلال هذه المرحلة من نمو الفطر؛ حيث يتم تنشيط هذه الدورة بواسطة إنزيم phosphofructokinase، بينما يتم تثبيطها عن طريق إنزيم pyruvate kinase.

ويزداد نشاط إنزيم citrate synthase خلال مرحلة إنتاج حمض الستريك إلى حوالى عشرة أضعاف نشاطه العادى؛ حيث يؤدى ذلك إلى زيادة تخليق هذا الحمض فى بيئة التخمر، بينما تثبط الإنزيمات المسئولة عن استهلاك حمض الستريك الذى



شكل (٣٩) : دورة الجلكزة Glycolysis (Embden- Meyerhof pathway).



شكل(٤٠): دورة السكريات الخماسية المفسفرة (pentose phosphate pathway):حيث يتحول الفركتوز ٦-فوسفات إلى جلوكوز ٦ - فوسفات، الذى يمكنه دخول دورة الجلكزة، أو يعود مرة أخرى إلى دورة السكريات الخماسية المفسفرة. ويمكن للجلسرالدهيد ٣ – فوسفات دخول دورة الجلكزة.

تم تخليقه؛ مثل إنزيمى **aconitase** و **isocitrate dehydrogenase**؛ وذلك بالمقارنة بمرحلة نمو الفطر وتكوين كتلته الحيوية **fungal biomass**.

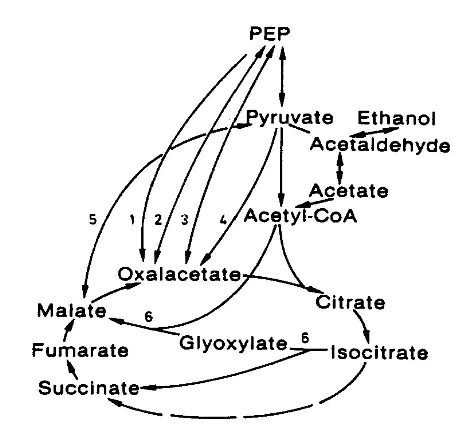
ويلاحظ أن إنتاج حمض الستريك يتم بعد أن يستكمل الفطر نموه فى البيئة الغذائية؛ مستهلكاً جزءاً من الجلوكوز فى تكوين نمواتٍ ميسليومية بدرجةٍ كافية، ولكن عند تغيير ظروف البيئة لدفع الفطر لتكوين حمض الستريك دون استهلاكه، فإن الفطر يكوّن جراثيمه تحت هذه الظروف.

وفى مرحلة تكوين جراثيم الفطر يتراكم الجلسرول فى الميسليوم، حتى يصل إلى تركيزٍ عالٍ يثبط عنده إنزيم **isocitrate dehydrogenase** الذى يحتاج فى نشاطه إلى المرافق الإنزيمى **NADP** الحامل للهيدروجين. ويعتبر هذا الإنزيم من إنزيمات الميتوكوندريا؛ وهو يقوم باستهلاك حمض الستريك وتمثيله غذائياً فى حالة نشاط الفطر.

وعند تثبيط هذا الإنزيم، يسلك التمثيل الغذائى للفطر مساراتٍ أخرى مختلفةً؛ حتى لا تثبط دورة الأحماض الثلاثية الكربوكسيل خلال مرحلة إنتاج حمض الستريك؛ حيث يطلق على مثل هذه المسارات اسم التفاعلات المساعدة **anaplerotic reactions** (شكل ٤١).

ومن أهم هذه التفاعلات التى يسلكها الفطر ***Aspergillus niger*** فى تمثيله الغذائى خلال مرحلة إنتاج حمض الستريك؛ ذلك التفاعل الذى يقوم به إنزيم **pyruvate carboxylase**؛ حيث يعمل على تحويل البيروفات وثانى أكسيد الكربون إلى أوكسال حمض الخليك **oxalacetate** فى وجود **ATP**.

ويحتاج التفاعل السابق إلى أيونات المغنسيوم والبوتاسيوم، بينما لا يحتاج إلى أستيل المرافق الإنزيمى أ **(Acetyl CoA)**. ويعتبر إنزيم **pyruvate carboxylase** من الإنزيمات الأساسية فى إنتاج حمض الستريك.



شكل (٤١) التفاعلات المساعدة المرتبطة بدورة الأحماض الثلاثية الكربوكسيل.

وبالإضافة إلى الإنزيم السابق، هناك إنزيم آخر من الإنزيمات المساعدة؛ وهو إنزيم **phosphoenol pyruvate carboxykinase**؛ الذى يحول فوسفول اينول بيروفات **(PEP)** وثانى أكسيد الكربون إلى أوكسال حمض الخليك **oxalacetate** فى وجود **ADP** التى تتحول إلى مركب عالى الطاقة **ATP**. ويحتاج هذا الإنزيم فى نشاطه إلى أيونات المغنسيوم أو المنجنيز أو البوتاسيوم أو الأمونيوم.

وتلعب تركيزات الأيونات السابقة دوراً هاماً فى تكوين حمض الستريك فى البيئة الغذائية التى ينمو فيها الفطر خلال مرحلة التخمر؛ وذلك من خلال تأثيرها الحيوى على نشاط الإنزيمات المحددة للمسارات المختلفة للدورات الحيوية التى يسلكها الفطر

خلال تمثيله الغذائى؛ فعلى سبيل المثال تؤدى زيادة أيونات الأمونيوم فى بيئة النمو إلى تثبيط إنزيم **isocitrate dehydrogenase**، بينما يعمل ذلك على تشجيع نشاط إنزيم **phosphophenol pyruvate carboxykinase**.

وهناك تفاعلات مساعدة أخرى يلجأ إليها الفطر ***A.niger*** فى تمثيله الغذائى؛ وذلك عند توافر الخلات أو المركبات الأليفاتية الطويلة مثل الألكانات (والتى تحتوى على عدد من ذرات الكربون يتراوح بين ٩ ذراتٍ و ٢٣ ذرة) كمصدرٍ للكربون فى البيئة الغذائية التى ينمو فيها.

ومن هذه التفاعلات ما يقوم به إنزيم **phosphoenol pyruvate carboxytrans-phosphorylase**؛ الذى يقوم بتحويل فوسفو اينول بيروفات إلى أوكسال حمض الخليك.

جـ- إنتاج حمض الستريك صناعيًا:

عند نمو الميسليوم الفطرى على بيئة النمو السائلة فى المرحلة الأولى من إنتاج حمض الستريك، يستهلك الفطر جزءًا من الجلوكوز فى بناء مزيدٍ من الهيفات الفطرية والمكونات الحيوية اللازمة لها؛ حتى يغطى النمو سطح البيئة - فى حالة التخمر السطحى - أو تتكون كتلة حيوية **biomass** - فى التخمر العميق - تكفى لإنتاج حمض الستريك.

فإذا ما كوّن الفطر هذه الكتلة الحيوية المناسبة من النموات الميسليومية، بدأت المرحلة الثانية التى يتم خلالها تحويل المتبقى من الجلوكوز فى بيئة النمو إلى حمض ستريك، بينما يُفْقَد جزء يسير من الجلوكوز خلال هذه المرحلة، أقل بكثيرٍ مما فقد خلال التنفس فى المرحلة الأولى.

ويوضح جدول (١٠) كمية ما يتم إنتاجه من حمض الستريك باتباع تقنية التخمر السطحى أو التخمر العميق، مع ملاحظة أن الإنتاج النظرى **theoretical yield**

من حمض الستريك هو ١٢٣ جرام حمض ستريك مائىّ أو ١١٢ جرام حمض ستريك لامائى لكل ١٠٠ جرام جلوكوز. ولكن يجب أن يؤخذ فى الحسبان عدم إمكانية الحصول على هذا الإنتاج النظرى من الناحية العملية؛ وذلك لاستهلاك جزء من الجلوكوز خلال مرحلة نمو ميسليوم الفطر وتكوين كتلته الحيوية، بالإضافة إلى الكمية المستهلكة من الجلوكوز خلال التنفس وإنتاج ثانى أكسيد الكربون.

جدول (١٠) : إنتاج حمض الستريك باستخدام طرق تخمر مختلفة.

نوع الفطر	المادة الخام المستخدمة (٪ سكروز)	طريقة التخمر	المحصول الحقيقى		أقصي محصول نظري ٪
			٪ كجم ماده خام	٪ كجم مصدر كربون	
A . niger	مولاس بنجر (٥٠ ٪)	سطحي	٤٢	٨٤	٦٨,٤
A . niger	مولاس بنجر (٥٠ ٪)	عميق	٤١	٨٢	٦٦,٨
A . niger	مولاس بنجر (٥٤ ٪)	عميق	٤٦	٨٥	٦٩,٤
خميره	الكان	عميق	١٦٥	٨٢	٦٦,٨
خميره	ميثانول	عميق	٤٠	٤٥	٣٦,٦
خميره	إيثانول	عميق	٦٠	٤٨,٤	٤١,١

وتعتبر تقنية التخمر السطحى **shallow fermentation technology** وتقنية التخمر العميق **deep fermentation technology** الطريقتين المستخدمتين فى إنتاج حمض الستريك تجاريًا؛ وذلك بإنماء الفطر على بيئة سائلة تحتوى على سكر البنجر، أو مولاس القصب، أو محلول سكر الجلوكوز كمصدرٍ كربونّي.

ويلاحظ عند استعمال المولاس فى إنتاج حمض الستريك تجاريًا تجنب تلوثه بالمعادن الثقيلة؛ حيث يمكن اتّباع طريقة التبادل الأيونى **ion exchange** لإزالة هذه المعادن والتخلص منها. وقد تستعمل لهذا الغرض مادة مخلبية **chelating agent**، مثل

مادة الفيروسيانيد **ferrocyandie**، أو هكساسيانوفيرات الكالسيوم **calcium hexacya-noferrate**.

وتعتبر عملية إنتاج حمض الستريك بواسطة الفطر ***A. niger*** حساسةً للغاية؛ وذلك لوجود أيونات المانجنيز فى البيئة؛ حيث ينخفض معدل الإنتاج بشدةٍ إذا وجدت أيونات هذا العنصر بتركيز ٣ ميكروجرامات لكل ملليلتر من البيئة.

لذلك فإنه من اللازم معاملة المولاس – قبل استخدامه كبيئةٍ لإنماء الفطر – ببعض المواد التى تثبط امتصاص هيفات الفطر للمانجنيز؛ مثال ذلك النحاس، أو مادة **hexacyanoferrate**؛ مما يعوق تأثيره المثبط.

وعلى العكس من ذلك، فإن إنتاج حمض الستريك بواسطة بعض الفطريات الأخرى – بما فيها فطر الخميرة ***Candida guilliermondii*** – لايتأثر تأثيراً معاكساً بالمانجنيز؛ ومن ثم فإن المعاملة السابقة بمادة **hexacyanoferrate** ليست ذات أهميةٍ فى مثل هذه الحالات.

*** طريقة التخمر السطحي:**

خلال عملية التخمر الضحل (السطحى)، ينمو الفطر ***A. niger*** فى صوانٍ مصنوعةٍ من الألومنيوم النقى العالى الجودة؛ بعمقٍ يتراوح بين خمسة سنتيمترات وعشرين سنتيمتراً. وتحفظ مثل هذه الصوانى فى حجراتٍ معقمةٍ، وتلقح بمزرعة الفطر. وهناك سلالات عديدة من الفطر ***A. niger*** تستعملها المصانع التجارية لإنتاج حمض الستريك؛ حيث يحتفظ كل مصنع بسرّ نوع السلالة المستخدمة، وكذلك بالتحسينات التى يجريها خلال مراحل الإنتاج.

وحيث إن عملية إنتاج حمض الستريك تجارياً من الصناعات التقليدية، فإن المنافسة على كمية الإنتاج وجودته ترتبط باختيار السلالة المناسبة من الفطر المستخدم، وكذلك بتحسين ظروف الإنتاج وتطوير آلياته.

وينتج من هذه الصناعة كميات كبيرة من النموات الفطرية؛ بصرف النظر عن الطريقة المستخدمة فى إنتاج حمض الستريك؛ وهذا يوضح أن هناك مخلفاتٍ تتبقى من الإنتاج التجارى لهذا الحمض؛ تتمثل فى الكتلة الحيوية **biomass** من النموات الفطرية، والتى يمكن استخدامها كأسمدةٍ حيوية، أو كمصدرٍ لإنتاج بعض المواد الكيموحيوية.

جدول (١١) : إنتاج الأحماض العضوية بواسطة بعض الخمائر.

(عن Wainwright, 1992)

اسم الفطر المستخدم	الحمض	الانتاج (٪)
١ ـ الفطر *Candida guilliermondii*	ستريك **citric**	١٤٠
٢- الفطر *C. lipolytica*	ستريك **citric**	١٤٠
٣- الفطر *C. oleophila*	ستريك **citric**	٦٥
٤- الفطر *C. brumptii*	**L (+) iso citric**	٢٨
٥ - الفطر *C. hydrocarbofumarica*	**α - Ketoglutaric**	٨٤
٦- الفطر *Aureobasidium pullulans*	جلوكونيك **gluconic**	غير محسوبة
٧- الفطر *Candida sp.*	ايتاكونيك **itaconic**	٣٥

وعند استخدام المولاس كبيئةٍ لإنماء الفطر عليها، فإنه يتم ضبط رقم حموضتها أولاً إلى رقم حموضة يتراوح بين ٥ ـ ٧, ويجب أن يزيد رقم الحموضة الأولى درجتين قبل أن تستطيع كونيديات الفطر الإنبات، وبعد ذلك يجب أن يضبط رقم حموضة البيئة إلى أعلى من ٣,٥ خلال مرحلة نمو الفطر، وإلا أنتج الفطر أحماضاً عضويةً أخرى؛ مثل حمض الأوكساليك **oxalic**، والجلوكونيك **gluconic**؛ مما يصعب استخلاص وتنقية الناتج النهائى وهو حمض الستريك.

ويعقب عملية إضافة اللقاح الفطرى (البادىء) **inoculation** وضع الصوانى على حوامل فى حجرةٍ معقمة، حيث يُدفع داخلها هواء معقم؛ يمر فوق النموات الفطرية؛ ليوفر لها احتياجاتها من الأكسجين، ولكى يحفظ الحرارة عند ٣٠ْم.

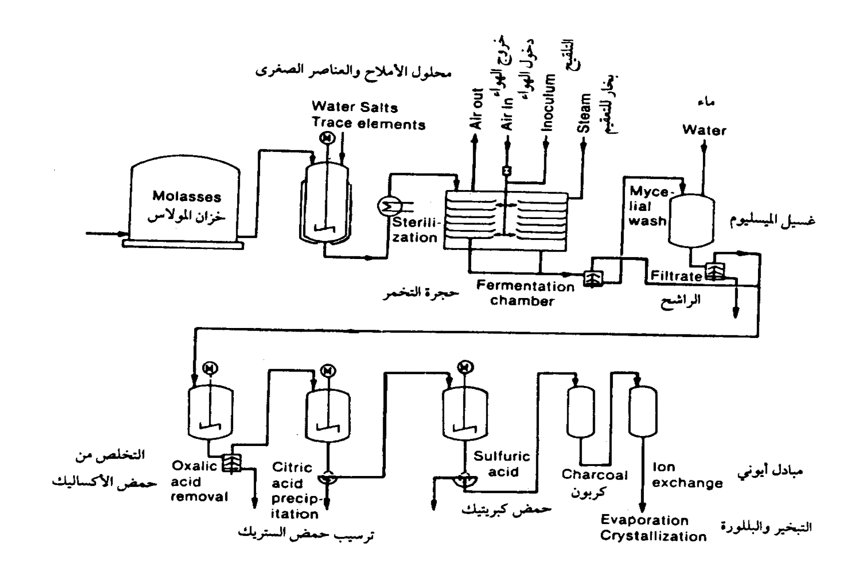
ومن العوامل المؤثرة على إنتاج حمض الستريك بطريقة التخمر السطحى مساحة سطح الصوانى المستخدمة فى الإنتاج بالنسبة إلى حجم البيئة المستخدمة فى تنمية الفطر، وكلما كان المسطح أكبر زاد الانتشار السطحى لنمو الفطر، وزاد تَحوُّل السكر إلى حمض ستريك بفعل الإنزيمات الداخلية فى هيفات الفطر؛ حيث تصل كفاءة الإنتاج إلى نحو ٦٠٪ من كمية السكر المستخدمة فى البيئة.

وتُتبعُ طريقة النقل المتتالى للجراثيم الفطرية من البيئة القديمة إلى البيئة الجديدة؛ حيث يشجع ذلك إنتاج الحمض. وعادةً ما تجهز مادة اللقاح الأولى؛ وذلك بتلقيح البيئة الغذائية – ٧٥ملليلتر من بيئةٍ تحتوى على ١٤٪ سكراً ورقم حموضتها ٢ من دورقٍ زجاجىٍ سعة ٢٥٠ ملليلتراً – بجراثيم الفطر، ثم تحضن لمدة عشرة أيام على حرارة ٢٦ْم.

وبعد نمو الفطر فى الدورق السابق، تُنقل محتوياته إلى دورقٍ آخر أكبر حجماً، ثم تكرر هذه العملية كل عشرة أيامٍ، ولمدة تصل إلى ثمانية أشهرٍ. وفى هذه المرحلة يكون حجم اللقاح الأولى كافياً لتلقيح وعاء التخمر فى الإنتاج التجارى.

وخلال الأيام القليلة الأولى من مرحلة نمو فطر ***A. niger***، تتكون طبقة سميكة من النموات الفطرية (حصيرة ميسليومية) يطلق عليها اسم الكتلة الحيوية الفطرية **fungal biomass** تطفو على سطح البيئة السائلة. وفى هذه المرحلة ينخفض رقم حموضة البيئة إلى نحو ١,٥–٢؛ نظراً لامتصاص هيفات الفطر لأيونات الأمونيا من بيئة النمو، وتكوين حمض الستريك.

ويستمر النمو الفطرى حوالى ٨ أيام - ١٤ يوماً، وفى حالات الإنتاج التجارى يبلغ مسطح الإنتاج - فى حالة التخمر السطحى - نحو اثنى عشر هكتاراً. ويبلغ معدل إنتاج الفطر لحمض الستريك حوالى ١,٢ - ١,٥ كيلو جرام من الحمض لكل مترٍ مربعٍ من سطح البيئة الغذائية فى الساعة الواحدة. كما ينتج عن نمو الفطر حرارة تعادل ١٢,٥٠٠ كيلو جول لكل كيلو جرام حمض ستريك منتج.



شكل (٤٢) : انتاج حمض الستريك بطريقة التخمر السطحى.

وفى اليابان، تتم مراحل إنتاج حمض الستريك باستخدام طبقاتٍ من المخلفات الصلبة للخضروات السابق سلقها، والتى يتم وضعها فى صوانٍ، أو تنثر على أرضية غرف الإنتاج، ثم تلقح بالفطر ***A. niger***. وبعد ذلك بـ ٥-٨ أيام يتم استخلاص حمض الستريك المتكون عن طريق معاملة هذه المخلفات النامى عليها الفطر، ثم ترشح المخلفات بعد ذلك.

ولقد استمر إنتاج حمض الستريك بطريقة التخمر السطحى حتى نهاية عام ١٩٤٠؛ حيث استبدلت بها طريقة التخمر العميق. وفى الطريقة الأخيرة يتم استخدام أوعيةٍ مصنوعةٍ من الصلب العالى الجودة غير القابل للصدأ، أو تستخدم أوعية معدنية مغطاة بطبقةٍ من البلاستيك؛ بحيث تكون مقاومةً للتآكل بفعل حمض الستريك المفرز بواسطة هيفات الفطر ***A. wentii***.

*** طريقة التخمر العميق:**

يستخدم فى هذه الطريقة الفطر ***A.wentii***، كما استخدمت بعض السلالات التابعة للفطر ***A. niger*** والتى أعطت إنتاجيةً عاليةً من حمض الستريك بطريقة التخمر العميق (طريقة المزرعة المغمورة)؛ حيث يتم إنتاج ٨٠٪ من الإنتاج العالمى لحمض الستريك بهذه الطريقة.

وتختلف السلالات فيما بينها فى كفاءتها الإنتاجية، كما أن الجراثيم الأصغر عمراً أكثر كفاءةً فى إنتاجها لحمض الستريك من الجراثيم الأكبر عمراً.

وتلعب ظروف الإنتاج دوراً كبيراً فى نسبة تحول السكر إلى حمض ستريك بفعل إنزيمات الفطر؛ وخاصة التهوية؛ لذلك يتبع تقليب البيئة داخل وعاء التخمر لرفع كفاءة التهوية؛ حيث يستمر ذلك لمدة أربعة أيام؛ وبذلك تصل نسبة تحول السكر إلى حمض ستريك لحوالى ٧٠٪ - ٧٥٪؛ وهى نسبة جيدة تجارياً.

وبعد انتهاء مرحلة الإنتاج، يتم فصل ميسليوم الفطر (الكتلة الحيوية **biomass**)، ثم يترسب حمض الستريك فى صورة سترات كالسيوم، وبعد ذلك يعادل المحلول بحمض كبريتيكٍ مخففٍ لتكوين راسبٍ من كبريتات الكالسيوم، بينما ينفرد حمض الستريك، وبعد ذلك تجرى تنقيته وبلورته.

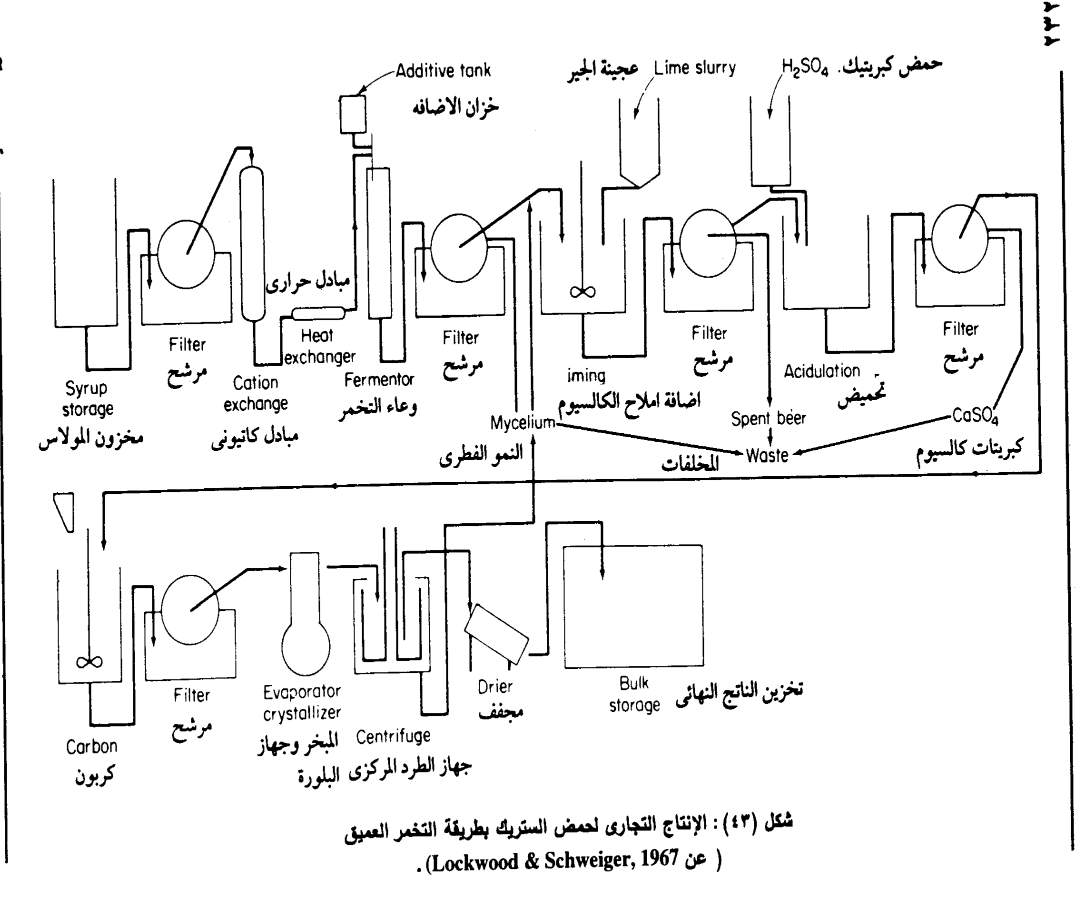
*** طرق أخرى للإنتاج :**

يمكن استعمال مفاعلات حيوية مهتزة **stirred tank reactors** لإنتاج حمض الستريك. وفى حالاتٍ أخرى يتم الإنتاج عن طريق أبراج التخمر **tower fermentors**. وتنمو الهيفات الفطرية على صورة كراتٍ صغيرة الحجم، يجب أن يكون قطرها حوالى ملليمترٍ واحدٍ، حتى تصبح فى أقصى كفاءةٍ لها؛ لإنتاج حمض الستريك.

ومن ناحية أخرى، يمكن إنتاج حمض الستريك باتباع تقنية الخـلايا المسكنة **immobilised cells**؛ حيث قام كل من الباحثين **Borglum & Morshall** من معامل شركة ميلس **Miles** عام ١٩٨٣ بتسكين هيفات الفطر ***A.niger*** على كراتٍ من مادة الآجار أو الكارجينانات، ثم إمرار محلول الجلوكوز خلال هذه الكرات. ولقد تم تسجيل براءة اختراع لهذه التقنية الفريدة باسْمَىْ هذين الباحثين.

ويعتبر إنتاج حمض الستريك حساساً – إلى حَدٍ ما – لمستوى الأكسوجين الذائب فى بيئة النمو. وعند استعمال البيئات السائلة المعتادة بطريقة التنمية على دفعات **batch culture**، فإن الإنتاج من هذا الحمض يصل إلى ٩٠٪ من هذه البيئة المستعملة فى نمو الفطر، فى حين أن استعمال المزارع المستمرة أو نصف المستمرة **continuous or semicontinuous cultures** فى إنتاج حمض الستريك أقل انتشاراً.

ولقد استعملت الخمائر كبديلٍ عن الفطريات الهيفية فى إنتاج حمض الستريك؛ حيث تتميز هذه الخمائر بسرعتها فى التخمر، بينما تُظْهِر الأنواع المحبة لارتفاع الضغط الأسموزى فى البيئة **osmophilous species** ميزةً أخرى فى تحملها للتركيزات العالية من السكر فى بيئة النمو.



شكل (٤٣) : الإنتاج التجارى لحمض الستريك بطريقة التخمر العميق
(عن Lockwood & Schweiger, 1967).

تابع شكل (٤٣) :

يتم إعداد المواد الخام المستخدمة فى الإنتاج التجارى لحمض الستريك وذلك على صورة محلول غذائى يحتوى على ١٥ - ٢٠ ٪ سكروزاً، ثم يتم ترشيح ذلك المحلول، وإمراره على مبادل أيونى لنزع الكاتيونات فيصبح المحلول حامضياً، عندئذ تضاف الأمونيا إليه لرفع رقم الحموضة إلى ٢ - ٤، ويعقم.

يتم تلقيح المحلول المعقم بواسطة جراثيم الفطر *A.niger*، سواء فى صورة جافة أم معلق للجراثيم. ويراعى التهوية المستمرة أثناء مرحلتى التنمية والإنتاج، مع التحكم في رقم حموضة البيئة بحيث لا يزيد عن ٣,٥، خاصة فى مرحلة الإنتاج حتى لا يتكون حمض الأوكساليك أو حمض الجلوكونيك. وتضاف مواد مانعة للرغوة مثل مادة سوربيتان (توين Tween) .

وبعد إنتهاء مرحلة الإنتاج يرشح المحلول الغذائي لإستبعاد الكتلة الحيوية للفطر، ثم يضاف أيدروكسيد الكالسيوم لمعادلة حموضة الراشح، وبذلك يمكن الحصول علي سترات الكالسيوم المترسبه من خلال ترشيحها.

يغسل راسب سترات الكالسيوم للتخلص من بقايا المحلول الغذائى، ثم ينقل هذا الراسب إلي خزان التحميض حيث يضاف إليه حمض كبريتيك، وبعد ذلك يرشح المحلول للتخلص من كبريتات الكالسيوم المترسبة، بينما يمرر محلول حمض الستريك علي فحم لإزالة اللون، ثم يرشح مرة أخرى.

ويركز محلول حمض الستريك الناتج عن طريق تبخيره حتي يصل إلي تركيز ٣٥ - ٤٠ بوميه (وحدة قياس التركيز في المحاليل)، وبعد ذلك يتم بلورته علي حرارة ٣٦,٦°م. وفى النهاية تجمع البلورات وتطرد مركزياً، ثم تجفف وتعبأ.

وعلى الرغم من هذه المميزات الهامة التى تبديها الخمائر فى إنتاج حمض الستريك، إلا أنها تبـدى تغـيراتٍ فجائيـةً فى سلوكها؛ حيث تنـتج هـذه الخمـائر

جدول (١٢) : مقارنة بين بعض طرق إنتاج حمض الستريك صناعيا (عن Ward, 1990) .

ظروف التنمية	*Aspergillus niger*	*Aspergillus niger*	*Candida guilliermondii*
نوع التخمر	مزرعة سطحية العمق (٠,٠٥ ـ ٠,٢ متر).	مزرعة عميقة فى خزان مقلب حجمه ٤٠ ـ ٢٠٠ متر مكعب.	مزرعة عميقة فى خزان مقلب حجمه ٤٠ ـ ٢٠٠ متر مكعب.
نوع اللقاح فى وعاء الإنتاج	كونيديات في معلق حجمه حوالى ١٥٠ ملل (٢ × ١٠⁹ كونيدة/ متر مكعب)	لقاح ميسليومى محضر فى مخمر مبدئى أو تلقيح مباشر بمعلق جرثومى (كونيدي).	لقاح ميسليومى محضر فى مخمر مبدئى .
رقم حموضة التخمر	يبدأ برقم حموضة ٥ ـ ٧ لنمو وتجرثم الفطر **A. niger** ثم يخفض رقم الحموضة إلى ٢ لإنتاج حمض الستريك.		يبدأ برقم حموضة ٤,٥ ـ ٦,٥ للنمو ثم يخفض إلى ٣,٥ لإنتاج حمض الستريك.
درجة الحرارة	٣٠°م	٣٠°م	٢٥ ـ ٣٧°م

التهوية	دفع هواء وتبريد	٠,٥ ـ ١حجم هواء/ وحدة حجم بيئة/ دقيقة. ضغط الأكسجين > ١٤٠ ملليبار. (التخمر حساس جدا للأكسجين)	٠,٥ ـ ١ حجم هواء/ وحدة حجم بيئة/ دقيقة.
البيئة	مولاس أو محلول جلوكوز، بالاضافة إلي المواد الغذائية المضافة والأملاح.		
	١٥٠ كجم/ متر مكعب	١٤٠ ـ ٢٢٠ كجم/ متر مكعب	حتى ٢٨٠ كجم/ متر مكعب.
المعاملات المبدئية للبيئة	يجب أن يكون تركيز المنجنيز منخفضاً وتحتاج البيئة إلى معاملة مبدئية بواسطة هكسا سيانوفيرات أو املاح النحاس		لا تحتاج إلى معاملات لخفض المعادن.
احتياجات أخرى	أيونات الأمونيوم تساعد على زيادة إنتاج الحمض		خفض النتروجين يؤدى إلى تراكم الحمض.
		الميسليوم الفطرى فى صورة كريات **pellets**.	يحتاج الثيامين لزيادة تراكم الحمض.

نسبة عالية من حمض الأيزوستريك **isocitrate** على حساب إنتاج حمض الستريك قد تصل إلى نحو ٥٠٪؛ وهذه النسبة أعلى بكثير مما تنتجه الفطريات الهيفيه **filamentous fungi**؛ مثل الفطر ***A. niger***.

وبالإضافة إلى ما سبق، أمكن إنتاج حمض الستريك من الالكانات **n-alkanes**؛ باستعمال أنواع عديدة من فطر الخميرة ***Candida***، وخاصة ***C. lipolytica***. ويؤدى نمو هذه الخميرة على مثل هذه المادة العالية الاختزال إلى تكوين محصول يصل إلى ٢٥٠٪ من حمض الستريك من الناحية النظرية، بينما لاتزيد النسبة المتكونة فعليا على ١٧٥٪.

ويعتمد تحسين إنتاج حمض الستريك على استعمال مواد جديدة لإنماء الفطريات عليها واستخدام سلالات أكثر كفاءة على إنتاج هذا الحمض؛ فعلى سبيل المثال استخدم الباحثان **Xu and Hang (1988)** تفل التفاح **apple pomace** فى إنماء الفطر ***A. niger*** عن طريق تخمر المواد الصلبة **solid state fermentation**؛ وذلك فى وعاء متحرك دوّار **rotating drum fermentor** لإنتاج حمض الستريك.

د- العوامل المؤثرة على إنتاج حمض الستريك:

*** السلالات الفطرية:**

يمكن لكثير من الفطريات إنتاج حمض الستريك كأحد نواتج التمثيل الغذائى الأولية؛ مثال ذلك الفطريات ***Aspergillus niger***، و ***A. clavatus***، و ***Penicillium luteum***، و ***P. citrinum***، و ***Mucor piriformis*** ولكن بدرجات متفاوتة.

إلا أن بعض سلالات هذه الفطريات قادرة على إنتاج كميات تجارية من حمض الستريك؛ مثل تلك التابعة للفطر ***A. niger***؛ لذلك فإنها تستخدم بنجاح فى هذه الصناعة الهامة. وعادة ما يتم انتخاب أفضل هذه السلالات التى تتميز بكفاءة عالية فى إنتاج كمية كبيرة من حمض الستريك العالى الجودة.

*** رقم الحموضة:**

يناسب إنتاج حمض الستريك انخفاض رقم حموضة البيئة الغذائية التى ينمو فيها الفطر، والتى تصل إلى ٢,٠٠ . وعلى أية حالٍ يتراوح رقم الحموضة المناسب لإنتاج هذا الحمض بين ١,٦-٢,٢ ، ولكن عند ارتفاع رقم الحموضة إلى ٤-٥، يؤدى ذلك إلى انخفاض إنتاج حمض الستريك انخفاضاً معنوياً، وينتج حمض الأوكساليك بدلاً منه.

كما يؤدى عدم انخفاض رقم الحموضة إلى الدرجة المناسبة إلى زيادة نشاط إنزيم **aconitase**؛ مما يؤدى إلى انخفاض تراكم حمض الستريك فى البيئة. وفى بعض الحالات يمكن استخدام خميرة ***Candida aleophila*** لإنتاج هذا الحمض؛ وذلك بتنميتها على بيئةٍ غذائيةٍ عند رقم حموضة مرتفع نسبياً؛ يتراوح بين ٤ و ٧.

*** درجة الحرارة:**

تتوقف درجة الحرارة المناسبة على نوع الفطر المستخدم، وطريقة الإنتاج، ونوع البيئة الغذائية. وعادة ما تتراوح درجة الحرارة المستخدمة بين ٢٥°م و ٣٥°م، بينما تعتبر درجة الحرارة ٢٦°م - ٢٨°م هى الدرجة المثلى.

ويؤدى ارتفاع درجات الحرارة لأكثر من ٣٠°م إلى اتجاه التفاعل الحيوى لإنتاج حمض الأوكساليك بدلاً من الستريك، كما يزداد تأثير أيونات المعادن على إنتاج حمض الستريك بارتفاع درجة الحرارة.

*** تأثير مصدر الكربون:**

يمكن استخدام عديدٍ من المواد العضوية لإنماء الفطر المناسب وإنتاج حمض الستريك. ويعتبر سكر المالتوز أفضل من السكروز لإنتاج هذا الحمض، بينما السكروز أفضل من السكريات الخماسية والسداسية الأخرى التى تعتبر غير ملائمةٍ لإنتاج حمض الستريك. كما يعتبر تركيز السكر من العوامل الهامة المؤثرة على الإنتاج؛ حيث وجد أن أفضل إنتاجٍ كان عند استخدام محلول بيئةٍ غذائيةٍ تحتوى على تركيز ١٢,٥-١٥ جرام سكر فى اللتر.

*** تأثير مصدر النتروجين والأملاح المعدنية:**

تحتاج عملية إنتاج حمض الستريك حيويًا بواسطة الفطريات إلى مصدرٍ نتيروجيني، بالإضافة إلى عديدٍ من العناصر؛ مثل: البوتاسيوم، والفوسفور، والكبريت، والمغنسيوم بكمياتٍ كافيةٍ، وعلى صورة أملاحٍ ذائبة فى بيئةٍ نمو الفطر.

ويعتبر الببتون أفضل مصدرٍ نيتروجيني مناسب لإنماء الفطر ***Aspergillus niger***، تليه أملاح النترات؛ مثل: نترات الماغنسيوم، ونترات الصوديوم، ونترات الأمونيوم؛ على الترتيب.

*** تأثير العناصر الصغرى:**

تؤثر إضافة المنجنيز والحديد والنحاس على إنتاج حمض الستريك؛ فعلى سبيل المثال وجد أن إضافة سيانيد الحديد على المولاس المستخدم لتنمية فطر ***A. niger*** تؤدى إلى زيادة الكفاء الإنتاجية لحمض الستريك بنسبة ٣,٥٪.

كما أدى توفر المنجنيز والنحاس والزنك والحديد فى بيئة النمو كلٌ على حدةٍ وبتركيزات ٠,٠١ و ٠,٠٢٥ و٠,٥ و ١ جزء فى المليون إلى زيادة إنتاج حمض الستريك فى بيئة النمو.

٢- إنتاج حمض الجاليك:

يتكون حمض الجاليك **gallic acid** من الجالوتانين **gallotannin**؛ وذلك عن طريق فعل إنزيم التحليل المائى **tannase**. ويستعمل هذا الحمض بصورةٍ رئيسيةٍ فى صناعة أحبار الطباعة، وفى دباغة الجلود، وفى علاج البواسير.

COOH
HO OH
OH
Gallic acid

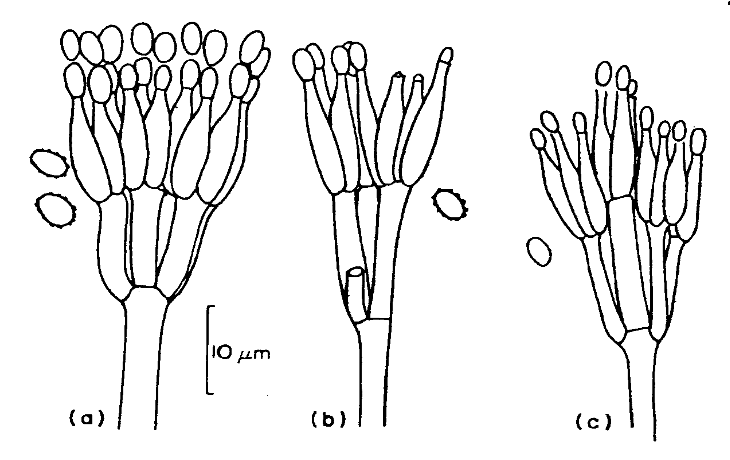
شكل (٤٤): التركيب الكيميائى لحمض الجاليك.

ويتم إنتاج هذا الحمض عن طريق تعريض كومات نبات العفص **gallnuts** إلى رطوبةٍ عاليةٍ؛ حيث تنمو عليها هيفات الفطريات متخللةً جزيئاتٍ هذه الكومة، مكونةً حمض الجاليك خلال شهرٍ أو نحو ذلك.

وتعتبر هذه الطريقة من الطرق القديمة المألوفة فى إنتاج هذا الحمض، إلا أن هناك طرقاً أخرى حديثةً تستخدم حالياً فى الإنتاج التجارى، تتبع خلالها طرق التخمر الصناعى؛ باستعمال بعض سلالات الفطر ***A. niger*** أو سلالات الفطر ***Penicillium chrysogenum***.

٣- إنتاج حمض الجلوكونيك:

يعتبر حمض الجلوكونيك **gluconic acid** شائع الاستخدام فى النواحى الطبية كمادةٍ منخفضة الطاقة **diet supplement** فى صورة أملاح كالسيوم أو بوتاسيوم أو



شكل (٤٥) : الفطر ***Penicillium purpurogenum***.
رءوس كونيدية متفرع منها قارورات phialides نحيفة متوازية. (a) ، (b) كونيديات ذات جدار خشن. (c)كونيديات ملساء ***(P. rubrum)***.

زنكٍ. وأيضاً تعتبر مادة جلوكونات الكالسيوم من أهم مصادر الكالسيوم فى غذاء الأطفال والسيدات الحوامل، ويستعمل فى إعداد بدائل الألبان فى الأبقار. كما يستخدم هذا الحمض بكثرةٍ فى تجهيز المنظفات الصناعية.

وينُتج هذا الحمض – بصورةٍ أساسيةٍ – باستعمال بعض سلالات الفطر ***A. niger*** خلال مراحل تخمر البيئة السائلة بالطريقة المغمورة **submerged fermentation process**. ومن الفطريات الأخرى التى لها القدرة على إنتاج حمض الجلوكونيك الفطر ***Penicillium chrysogenum*** والفطر ***P. purpurogenum*** وبعض سلالات الفطر ***Pullaria pullulans*** وبعض أنواع الجنس ***Moraxella***؛ وذلك باستخدام الجلوكوز كمصدرٍ كربونيٍ.

ويتم تكوين حمض الجلوكونيك عن طريق أكسدة الجلوكوز بواسطة إنزيم **glucose oxidase** خلال مرحلة التخمر بطريقةٍ مباشرةٍ، ولكن يجب أن يكون رقم حموضة البيئة ٦–٧. ويوضح شكل (٤٦) إنتاج حمض الجلوكونيك من الجلوكوز.

D-Glucose — δ-D-Gluconolactone — Gluconic acid

شكل (٤٦) : إنتاج حمض الجلوكونيك من الجلوكوز.

أ - طرق الإنتاج:

هناك عديد من الطرق المستخدمة فى الإنتاج الصناعى لهذا الحمض؛ منها طريقة التخمر السطحى فى الصوانى **shallow-pan method**، وطريقة التخمير العميق **submerged mould growth**، وطريقة الأسطوانات الدوارة **rotary drum method**.

ويمكن إنتاج حمض الجلوكونيك بطريقة الخلايا الساكنة أو الإنزيمات الساكنة؛ حيث تصل الإنتاجية إلى نحو ٩٣٪ فى وجود الأكسوجين النقى. وفى هذه التقنية يتم تسكين ميسليوم الفطر ***A. niger*** أو إنزيمات جلوكوز أكسيديز **glucose oxidase** والكتاليز **catalase** على دعاماتٍ **supports** من الكربون النشط أو من سبيكةٍ مكونةٍ من النيكل والسيليكا والألومينا **nickel-silica - alumina** أو من الخزف.

ويتم حجز هيفات الفطر - أو الإنزيمات التى سبقت الإشارة إليها - فى مادةٍ هلاميةٍ من البولى اكريلاميد **polyacrylamide**، أو من مادة **2-hydroxyethyl methacrylate**. ويجب أن يؤخذ فى الحسبان متابعة نشاط إنزيم الكتاليز؛ وذلك للتخلص من فوق أكسيد الهيدروجين الناتج من التفاعل.

ويوضح جدول (١٣) كفاءة إنتاج حمض الجلوكونيك باستعمال طرقٍ مختلفةٍ وفطرياتٍ مختلفةٍ.

ويتم تجهيز مادة لقاح الفطر المستخدم كما هو متبع فى إنتاج حمض الستريك؛ وذلك باستخدام سلالاتٍ محددةٍ من الفطر ***A. niger***، أو من الفطر ***P. chrysogenum***. ويعتمد الإنتاج التجارى لحمض الجلوكونيك على طريقة التخمر السطحى أو العميق، إلا أن طريقة التخمر العميق ينتج عنها كمية كبيرة من الحمض فى فترةٍ قصيرةٍ. ويتم إنتاج حمض الجلوكونيك فى صورتين: جلوكونات الكالسيوم، وجلوكونات الصوديوم.

جدول (١٣) : كفاءة الطرق والفطريات المختلفة
فى إنتاج حمض الجلوكونيك صناعياً

نوع الفطر	الطريقة المستخدمة	نوع وعاء التخمير	المدة اللازمة (يوم)	كفاءة الإنتاج (٪)
Penicillium luteum	تخمر سّطحى	صوان ألومنيوم	١١	٥٧,٤
P. chrysogenum	تخمر عميق	دوارق زجاجية ثابتة	٨	٨٠,٤
P.chrysogenum	تخمر عميق مع التقليب	دوارق زجاجية مهتزة	٢,٢	٨٠

ب- إنتاج جلوكونات الكالسيوم:

تنتج جلوكونات الكالسيوم باستعمال طريقة التخمر العميق، ثم تتم عملية تعادل الحمض الناتج عن طريق ملح كربونات الكالسيوم. ويزداد معدل التخمير بارتفاع معدل التهوية، مع تقليب البيئة التى ينمو عليها الفطر فى خزان التخمير.

ويصل معدل إذابة جلوكونات الكالسيوم فى محلول البيئة الغذائية إلى حوالى ٤ جراماتٍ لكل لترٍ، وذلك عند حرارة ٣٠°م، بينما يزداد معدل الإذابة إلى أكثر من ٢٠ جراماً لكل لتر عندما ترتفع درجة حرارة البيئة إلى ١٠٠°م.

لذا يجب ألا تحتوى بيئة النمو على أكثر من ١٣-١٥٪ جلوكوزاً؛ لأن زيادة تركيز الجلوكوز فى البيئة عن ذلك يؤدى إلى زيادة تكوين جلوكونات الكالسيوم؛ مما يؤدى إلى بلورتها فى البيئة وصعوبة فصلها وتنقيتها بعد ذلك.

ونتيجة لأن عملية التخمر تعتمد على الأكسوجين، فقد وجد أن زيادة الضغط تؤدى إلى زيادة ذوبان الأكسوجين.

ويوضح جدول (١٤) تأثير الزيادة فى الضغط أثناء التخمر على الزيادة فى معدل إنتاجية حمض الجلوكونيك.

جدول (١٤) : العلاقة بين إنتاجية حمض الجلوكونيك والضغط

الضغط (بار)	الإنتاجية (بالوزن)
١	٤٢,٥
٣	٨٠,٤
٤	٨٢,٤
٥	٨٣,١
٦	٨٦,١

جـ- إنتاج جلوكونات الصوديوم:

يشيع استخدام جلوكونات الصوديوم فى كثيرٍ من النواحى الغذائية والعلاجية أكثر من جلوكونات الكالسيوم. وتتميز جلوكونات الصوديوم بمعدل ذوبانها العالى الذى يصل إلى ٣٩٦جرام/لتر.

ولإنتاج جلوكونات الصوديوم تجارياً تستخدم - عادة - بيئة مكونة مما يلى: جلوكوز تجارى (٢٤٠-٣٨٢ جراماً)، مخلفات صناعة النشا من الذرة (٣,٧ جراماً)، يوريا (٠,١ جراماً)، فوسفات ماغنسيوم (٠,١٧ جراماً)، فوسفات بوتاسيوم (٠,٢ جراماً)، فوسفات أمونيوم (٠,٤ جراماً) لكل لتر بيئة.

ويتم ضبط رقم الحموضة بعد تعقيم البيئة؛ حيث يجب أن يكون عند ٦,٥، ثم يضاف اللقاح الفطرى الأولى (البادىء). ويجب المحافظة على رقم حموضة البيئة خلال مرحلة نمو الفطر؛ حيث يتم التحضين عند حرارة ٣٣-٣٤°م. وبصفةٍ عامةٍ

يتم إنتاج حمض الجلوكونيك فى وجود مصدرٍ نتروجينيٍ ومصدر فوسفوريٍ كعاملٍ محددٍ للنمو.

ويسترجع حمض الجلوكونيك من جلوكونات الصوديوم أو الكالسيوم؛ وذلك عن طريقة إضافة حمض الكبريتيك إلى البيئة الغذائية للفطر بعد استكمال فترة التحضين، مع رفع درجة الحرارة؛ حيث يؤدى ذلك إلى ترسيب كبريتات الكالسيوم، والتى تفصل بالترشيح. بعد ذلك يتم تركيز الراشح حتى يصل إلى نصف حجمه، ثم يفصل الحمض باستخدام طريقة التبادل الأيونى **ion exchange resins**.

د- إنتاج دلتا جلوكونو لاكتون:

تتم بلورة الجلوكونو دلتالاكتون **gluconodeltalacton** من محاليل فوق مشبعة لحمض الجلوكونيك؛ وذلك بوضع بللورات من الحمض فى المحلول المشبع على حرارة ٣٠-٧٠°م لمدة حوالى ١٨ ساعة.

ويجب الاحتفاظ بدرجة الحرارة فى هذا المدى خلال مرحلة التبلور؛ حيث إن انخفاض درجة الحرارة لأقل من ٣٠°م يؤدى إلى تبلور حمض الجلوكونيك، بينما يؤدى ارتفاع الحرارة إلى أعلى من ٧٠°م إلى بلورة جلوكونو جاما لاكتون. وبعد انتهاء بلورة الجلوكونو دلتا لاكتون يتم فصل هذه البلورات وتجفيفها عند حرارة ٤٧°م-٤٨°م. وتتميز هذه البلورات بأنها بيضاء اللون ونقطة انصهارها عند ١٥٣°م.

هـ- استخدامات حمض الجلوكونيك ومشتقاته:

* تستخدم جلوكونات الكالسيوم وجلوكونات الحديدوز فى تصنيع الأدوية المستخدمة لعلاج نقص الكالسيوم والحديد.
* يستخدم دلتا جلوكونولاكتون فى صناعة مساحيق الخبز **Baking powder**.
* يستخدم حمض الجلوكونيك فى مصانع الألبان كمنظف؛ ليمنع تكوين أحجار

الألبان milk stones، كما يدخل فى صناعة مركبات تنظيف مصانع الأغذية فى وجود الصودا الكاوية؛ نظراً لعدم تسببه فى تآكل الأوعية المصنوعة من الصلب غير القابل للصدأ، وأيضاً الأوعية والوصلات المصنوعة من النحاس أو الألومنيوم.

* يستخدم حمض الجلوكونيك فى صناعة أحبار الطباعة ودباغة الجلود، وصناعة أفلام التصوير الحساسة للضوء.
* تستخدم جلوكونات الصوديوم فى مخاليط صناعة الأسمنت.
* يستخدم حمض الجلوكونيك فى إزالة صدأ الحديد القلوى.
* تستخدم دلتا جلوكونو لاكتون كمادةٍ لخفض رقم حموضة كثيرٍ من عمليات التصنيع الغذائى، وخاصة صناعة الجبن.

٤- إنتاج حمض الإيتاكونيك Itaconic acid:

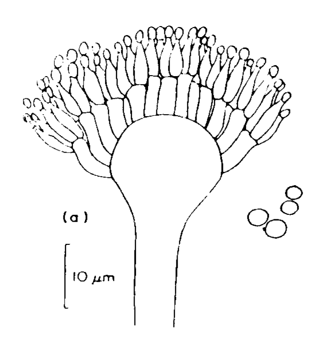
يعتبر Kinoshita (1931) أول من قام باكتشاف هذا الحمض؛ حيث وصف إنتاجه باستعمال الفطر *Aspergillus itaconicus*. وبعد ذلك بعدة سنوات، وجد Callam (1939) أن الفطر *A. terreus* أفضل من الفطر السابق فى إنتاج حمض الإيتاكونيك.

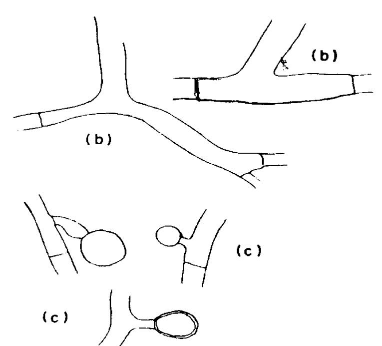
ومازال الفطر *A. terreus* يستخدم فى إنتاج هذا الحمض حتى الآن، إلا أن عدد المصانع التى تنتجه قليل نسبياً على مستوى العالم، برغم أهمية هذا الحمض فى عديدٍ من الأنشطة الإنسانية. ومن أهم الشركات المنتجة لحمض الإيتاكونيك: شركة فايزر بالولايات المتحدة، وشركة ساندويتش Sandwich بانجلترا، وشركة Iwata باليابان، بالإضافة إلى مصنعٍ واحدٍ بروسيا.

ويستخدم حمض الإيتاكونيك فى إنتاج المركبات المعقدة polymers التى تستخدم فى صناعة الورق - خاصة ورق الحائط - وكذلك فى إنتاج المواد اللاصقة والبويات، وأيضاً فى صناعة معقد الأكريلونتريل acrylonitrile المستخدم فى صناعة كثيرٍ من الألياف الصناعية، وفى صناعة السجاد.

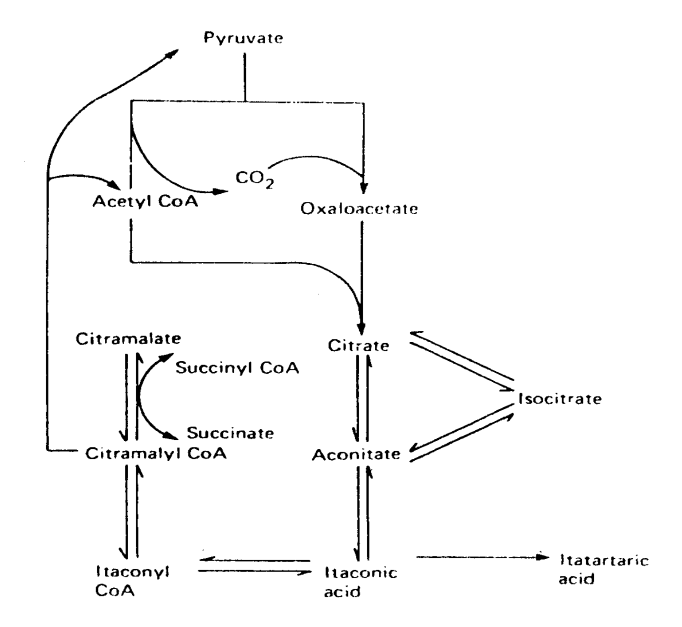
وبالإضافة إلى ماسبق، يدخل حمض الايتاكونيك فى صناعاتٍ أخرى عديدة؛ مثل صناعة بعض الصبغات والراتنجات الصناعية **resins**، والمواد الثقيلة القوام **thickening agents**، وأيضاً فى تجهيز أحبار الطباعة.

ويتم تخليق حمض الايتاكونيك من خلال دورة الأحماض الثلاثية الكربوكسيل، وذلك بواسطة نزع مجموعة الاكونيتات. وقد يتم تخليق هذا الحمض من البيروفات عبر حمض ستراماليك **citramalic** (شكل ٤٨).





شكل (٤٧) : الفطر ***Aspergillus terreus.***
(a)- الراس الكونيدى conidial head وكونيديات conidia.
(b)- خلية القدم foot cell .
(c)- خلايا من الميسليوم القاعدى.



شكل (٤٨) : عمليات تخليق حمض الإيتاكونيك.

ويلاحظ من الشكل السابق أن حمض السكسنيك **succinic acid** وحمض إيتاطرطريك **itatartaric acid** من النواتج الثانوية غير المرغوبة؛ لذلك تضاف أملاح الكالسيوم إلى بيئة نمو الفطر؛ وذلك لتنشيط إنزيم الأكسدة **itaconic oxidase**؛ الذى يعمل على تكوين حمض ايتاطرطريك.

وتتشابه طرق إنتاج حمض الإيتاكونيك مع الطرق المستخدمة فى إنتاج حمض الستريك، فيما عدا نوع الفطر المستخدم فى الإنتاج. كما تلعب النسبة بين أيونات الزنك والنحاس فى بيئة نمو الفطر دوراً هاماً فى إنتاج حمض الايتاكونيك.

ومعظم إنتاج هذا الحمض يتم باتباع تقنية التخمر العميق؛ وذلك فى أوعية متحركة مصنوعة من صلب غير قابل للصدأ. ويستعمل الجلوكوز أو السكروز كمادة غذائية لإنماء الفطر. ويصل أقصى نشاط للفطر *A. terreus* عند رقم حموضة ٢ .

وتستخدم بيئة تحتوى على المولاس وأملاح الأمونيوم، أو المحلول المتخلف عن صناعة نشا الذرة **corn-steep liqour** كمصدر للكربون والنتروجين لإنماء الفطر وإنتاج حمض الإيتاكونيك.

ويتراوح أفضل رقم حموضة لنمو الفطر من ٥,٠ إلى ٧,٠، بينما ينخفض رقم الحموضة المناسب لإنتاج حمض الايتاكونيك إلى ٣-٤. ويتم الحصول على كمية من هذا الحمض تعادل ٥٥-٦٥٪ من كمية الكربوهيدرات المستخدمة فى بيئة النمو.

ويجب أن يكون تركيز السكر فى بداية عملية التخمر ١٠٠ - ١٨٠ جرام لكل لتر بيئة؛ حيث تستغرق عملية التخمر لإنتاج الحمض نحو ٧٢ ساعة. ويجب مراعاة التهوية الجيدة خلال هذه المرحلة؛ حيث تؤدى التهوية السيئة إلى تثبيط الإنتاج.

وعلى الرغم من أن أكثر الطرق المستخدمة فى إنتاج حمض الإيتاكونيك هى تقنية التخمر العميق، إلا أنه أمكن إنتاج هذا الحمض عن طريق تقنية الخلايا الساكنة؛ حيث وصل الإنتاج إلى ٠,٧٣ جراماً من الحمض لكل لتر بيئة فى الساعة باتباع هذه التقنية.

كما قام **Kobayashi (1967)** بإنتاج هذا الحمض باتباع تقنية التنمية بالطريقة المستمرة **continuous culture** لمدة ١٤ يوماً. ولقد أظهرت النتائج أن الإنتاج بهذه التقنية اقتصادى فى تكاليفه؛ حيث تمثل التكاليف الإجمالية حوالى ٨١٪ من تكاليف التنمية على دفعات **batch culture**.

ويتم الحصول على حمض الإيتاكونيك عن طريق ترشيح نواتج التخمر فى محلول البيئة؛ حيث يتم استبعاد النموات الفطرية (الكتلة الحيوية)، ثم يتم التخلص من لون البيئة بواسطة الفحم النشط، وبعد ذلك يتم ترشيح الناتج، وتبخيره مع التقليب المستمر؛ لإعطاء فرصةٍ لتكوين بلورات حمض الإيتاكونيك. ويتم – عادة – إعادةَ البلورة مرة أخرى بعد التخفيف؛ للحصول على الحمض فى صورةٍ نقيةٍ.

٥- إنتاج حمض الكوجيك Kojic acid:

حمض الكوجيك عبارة عن **5-hydroxy - 2 hydroxymethyl - 4 - pyrone**؛ وهو يستخدم كمادةٍ إضافيةٍ فى صناعة البلاستيك، وكذلك فى صناعة الورق، وفى صناعة المالتول **Maltol**؛ كمادةٍ محسنةٍ للنكهه.

وينتج هذا الحمض بالتخمر المباشر للجلوكوز باستخدام الفطر ***Aspergillus flavus*** أو الفطر ***A. oryzae***؛ تبعاً للمعادلة التالية:

glucose → kojic acid

شكل (٤٩) : إنتاج حمض الكوجيك من الجلوكوز.

وتتشابه ظروف إنتاج حمض الكوجيك مع ظروف إنتاج حمض الستريك أو حمض الإيتاكونيك، إلا أن إنتاج حمض الكوجيك يقابله مشاكل فى عملية التنقية.

ويرجع ذلك إلى أن أية آثار لأيونات الحديديك فى بيئة النمو - حتى لو كانت ٠,١ جزءاً فى المليون - تكون كافية لتغيير اللون الأحمر الجميل المميز لهذا الحمض.

٦- إنتاج حمض الماليك Malic acid:

حمض الماليك عبارة عن **hydroxy butane dioic** وتركيبه كالآتى:

$$HOOC - CH_2 - \underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH}} - COOH$$

شكل (٥٠) : تركيب حمض الماليك.

ويتم إنتاج حمض الماليك عن طريق بلورته من المحلول المائى فى صورة حمض لامائى؛ حيث تقوم شركة **Kyowa Hakko Kogyo** اليابانية باستعمال أنواع من الفطر ***Aspergillus*** (مثل: ***A. parasiticus***، ***A. flavus***، و ***A. oryzae***) فى إنتاج حمض الماليك من الجلوكوز، وتبلغ كفاءة الإنتاج نحو ٥٨٪ من الجلوكوز الموجود فى البيئة.

ويستخدم الفطر ***A. wentii*** فى إنتاج حمض الماليك فى شركة **Chemische Werke Hüls** الألمانية ؛ وذلك بإنماء هذا الفطر على بيئة غذائية تحتوى على أملاح معدنية وسكروز وحمض الفيوماريك (١٢٥ جراماً / اللتر). وبعد تعقيم البيئة وتلقيحها بالنموات الفطرية، يتم تحضينها لمدة ثلاثة أيام، وبعد ذلك يتم الحصول على حمض الماليك المتكون بمعدل ١٣٢ جراماً لكل لتر بيئة.

ويتم الحصول على حمض الماليك بترسيبه من البيئة الغذائية بعد انتهاء عملية التخمر؛ وذلك بإضافة أحد أملاح الكالسيوم. وبعد ذلك تعاد إذابة بلورات مالات الكالسيوم المترسبة بواسطة حمض الكبريتيك للتخلص من أملاح الكالسيوم، ثم يبخر المحلول؛ فتتكون بلورات حمض الماليك التى يتم تجفيفها.

ويعتبر حمض الماليك من المواد المستخدمة فى صناعة عصائر الفاكهة، وبعض المشروبات غير الكحولية. كما يستخدم هذا الحمض فى صناعة المياه الغازية.

٧- إنتاج حمض الأسكوربيك L. ascorbic acid:

يعتبر حمض الأسكوربيك - أو فيتامين C - من المركبات الهامة غذائياً وطبياً؛ حيث يستخدم كمادة مضادة للأكسدة، ولتثبيت لون اللحوم، وكمادة مضادة لنمو الميكروبات، وكمعادلات للحموضة **acidulant**، وكمادة محسنة للطعم، بالإضافة إلى قيمتها الغذائية العظيمة.

وينتشر حمض الأسكوربيك فى كثير من المواد الطبيعية، سواء أكانت نباتية أم حيوانية. إلا أن معظم الإنتاج التجارى له يتم عن طريق التحولات الكيميائية من الجلوكوز، إلا أنه يمكن إنتاجه من الكائنات الحية الدقيقة.

فعلى سبيل المثال، يمكن إنتاج حمض الأسكوربيك من سكر السوربوز باستخدام بكتيريا ***Acetobacter suboxydans***، وأيضاً تستخدم بعض أنواع الخمائر مثل ***Candida norvegensis*** فى إنتاج هذا الحمض.

ولقد سجل مجموعة الباحثين **Cayle et al. (1986)** براءة اختراع لإنتاج حمض الأسكوربيك بواسطة خميرة ***Candida norvegensis*** من الجلكتوز؛ حيث تتم أكسدة الجلكتوز كيميائياً إلى **L. galactono-1,4-lactone**، ثم تقوم الخميرة بأكسدة المركب الأخير فى وجود الأكسوجين؛ حيث يتكون حمض الأسكوربيك كما هو موضح فى شكل (٥١).

D-GALACTOSE —OX.→ D-GALACTURONIC ACID —RED.→ L-GALACTONIC ACID

↓ CONC.

L-GALACTONO-1, 4-LACTONE —BIOCONV.→ L-ASCORBIC ACID

شكل (٥١) : إنتاج حمض الأسكوربيك من الجلكتوز بواسطة فطر الخميرة *Candida norvegensis*.

ثانيا: دور الخمائر فى إنتاج الأحماض العضوية.

استعملت الفطريات الهيفية **filamentous fungi** فى الطرق التقليدية لإنتاج الأحماض العضوية، كما استخدمت فطريات الخمائر **yeast fungi** فى نفس الغرض ولكن بدرجةٍ أقل.

ولقد كان للخمائر النصيب الأكبر فى الإنتاج الصناعى للأحماض العضوية؛ وذلك منذ نهاية ستينيات هذا القرن، حينما تم استخدام فطر الخميرة ***Candida lipolytica*** لإنتاج كمياتٍ ضخمةٍ من حمض الستريك؛ وذلك باستخدام مركبات البارافينات **n- paraffins** كبيئةٍ لإنمائها؛ مما أحدث ثورة فى الإنتاج التجارى لحمض الستريك.

ولا يعتبر ما سبقت الإشارة إليه مثيراً للدهشة، وذلك إذا وضعنا فى الحسبان أن ما ينتج من حمض الستريك باستعمال الخمائر يصل إلى ضعف ما يمكن إنتاجه باستعمال الفطر ***Aspergillus niger***.

إلا أنه من سوء الحظ، أدى الارتفاع المتزايد فى أسعار البترول – وكذلك المخاوف من أن إنتاج حمض الستريك من المواد البارافينية قد يكون ملوثاً بمخلفاتٍ مسرطنةٍ – إلى صرف النظر عن استمرار العمل فى مجال إنتاج هذا الحمض من مشتقات البترول. ومع ذلك استعملت الخمائر فى إنتاج أحماضٍ عضويةٍ متنوعةٍ – غير حمض الستريك – ولكن كانت عادةً على نطاقٍ ضيقٍ.

فعلى سبيل المثال، استخدم فطر الخميرة ***Torulopsis candida*** فى إنتاج حمض البراسيلك **brassylic acid** المستخدم فى صناعة العطور، وفى إنتاج حمض السيباسيك

sebacic acid المستخدم فى صناعة النيلون، بينما استخدمت الخمائر *-Saccharomy copsis sp.* و *Aureobasidium pullulans* فى إنتاج حمض الجلوكونيك **gluconic**، وتم إنتاج حمض الفيوماريك **fumaric acid** باستخدام *-Candida hydrocarbofu marica* وإنتاج حمض الماليك **malic acid** باستخدام فطر الخميرة *Candida utilis*.

ثالثاً: إنتاج الكحولات الصناعية:

تلعب الخمائر دوراً بارزاً فى إنتاج الكحولات المستخدة فى الصناعة، وخاصةً كحول الإيثانول **ethanol**؛ حيث يعتبر هذا الكحول أكثر المواد المنتجة عن طريق التخمر الفطرى؛ وذلك من الناحيتين الكمية والقيمة التجارية.

١- إنتاج كحول الإيثانول:

هناك عديد من الفطريات المختلفة التى يمكنها النمو على بيئاتٍ غذائيةٍ متباينةٍ لإنتاج كحول الإيثانول (جدول ١٥).

جدول (١٥) : إنتاج كحول الإيثانول بواسطة بعض فطريات الخمائر باستخدام بعض المواد العضوية (عن Wainwright, 1992).

نوع الإنتاج	اسم الخميرة المستخدمة	نوع المادة العضوية	الإنتاج (جرام / لتر)
تجارى	*Saccharomyces cerevisiae*	مولاس قصب السكر (البرازيل)	٦٩
		حبوب الذرة	٦٩
تجريبى	*Candida tropicalis*	هيميسيليوز محلل مائيا	١٤,٣
	C. wickerhamii	سيلوبيوز	٤٤
	Kluyveromyces marxianus	عصير القصب (عند ٤١ْم)	٨
	Pachysolen tannophilus	زيلوز	١٣,٥
	Saccharomyces cerevisiae	قش محلل مائيا	٧٠
	S. cerevisiae	زيلوز + إنزيم xylose isomerase	١١٠

أ- العوامل المؤثرة علي إنتاج الإيثانول:

*** اختيار سلالة الخميرة:**

يراعى عند اختيار سلالة الخميرة المستخدمة فى إنتاج كحول الإيثانول صناعيًا أن تتميز بكفاءةٍ إنتاجيةٍ عاليةٍ، وأن تكون ثابتة الصفات ولا تكوّن طفرات. وكذلك أن تحتفظ بحيويتها لفترةٍ طويلةٍ، سواء أكانت محفوظةً فى صورةٍ طازجةٍ أم مجففةٍ، مع تحملها التركيزات العالية من السكر أو الكحول الناتج.

وتستخدم – عادةً – سلالات من فطريات الخميرة المختلفة فى إنتاج كحول الإيثانول؛ حيث قسمت هذه السلالات – من ناحية تحملها للتركيزات العالية من الكحول الناتج من التخمر – إلى أربعة أقسام:

خمائر ضعيفة التحمل للغاية: يمكن لهذه السلالات من الخميرة تخمير ٧٧,٢٪ فقط من السكريات القابلة للتخمر فى ٢٤ ساعة عند حرارة ٣٠°م. ويجب أن تتراوح نسبة الجلوكوز فى بيئة النمو بين ١,٥ و ١٠٪؛ حيث تنمو عند رقم حموضة ٤,٣–٤,٤؛ مثال ذلك خميرة ***Willia anomala*** التى تستخدم فى صناعة البيرة باليونان؛ حيث ينتج عن نموها ٤,٨٪ كحولاً فى البيئة.

خمائر ضعيفة التحمل: وتتميز هذه السلالات بتحملها النوعى للتركيزات العالية من الكحول؛ حيث يمكنها تحويل ٩٥,٨٪ من الجلوكوز الموجود فى بيئة النمو إلى كحول إيثانول؛ منتجةً ٦,٧٪ كحولاً فى البيئة، كما هى الحال فى خميرة الخباز ***Saccharomyces cerevisiae***.

خمائر متوسطة التحمل: وهى مناسبة للإنتاج الصناعىّ لكحول الإيثانول؛ حيث يمكنها تحويل ٩٧,٩٪ من الجلوكوز الموجود فى البيئة إلى إيثانول، منتجةً نسبةً من الكحول تتراوح بين ٨,٥٦٪ و ٩,٥٢٪؛ مثال ذلك خميرة ***Saccharomyces elliposideus***.

خمائر عالية التحمل: ويمكن لهذه الخمائر تحويل نسبةٍ عاليةٍ من الجلوكوز الموجود في البيئة إلى كحول إيثانول، مشابهةً فى ذلك الخمائر متوسطة التحمل للتركيزات العالية من كحول الإيثانول، منتجةً نسبةً عاليةً من الكحول فى البيئة، تتراوح بين ١٠,٤٧٪ و ١٠,٦١٪ كحول إيثانول، كما هى الحال فى بعض الخمائر الحمراء.

*** تجهيز مادة اللقاح (البادىء):**

تستخدم لذلك سلالات من الخميرة ذات كفاءةٍ عاليةٍ فى إنتاج الإيثانول. ويجب تنشيط الخميرة بواسطة إنمائها لمراتٍ متتاليةٍ فى محلول التخمر؛ وذلك على حرارةٍ مناسبةٍ (٢٥°م-٣٠°م)؛ حتى يمكن الحصول على لقاحٍ أوليٍّ من الخلايا النشطة تكفى لتلقيح ٤ لترات من بيئة التخمر.

بعد ذلك يستخدم اللقاح المنشط السابق فى تلقيح وعاء التخمر التجارى؛ والذى يسع نحو ٥٠-٢٠٠ متر مكعب، مع مراعاة تعقيم وعاء التخمر والبيئة المستخدمة فى تغذية فطر الخميرة قبل إضافة اللقاح.

*** المادة الخام المستخدمة:**

تستخدم عديد من المواد الخام المحتوية على نسبةٍ من السكريات القابلة للتخمر بفعل فطر الخميرة؛ حتى ينتج عن ذلك التخمر كحول الإيثانول. وتختلف هذه المواد الخام المستخدمة لذلك الغرض؛ حيث يمكن استخدام مواد نشوية مثل القمح والشعير والبطاطس، أو مواد سيليلوزية مثل الخشب ومخلفات صناعة الورق، وأيضاً المواد السكرية مثل المخلفات السائلة الناتجة من صناعة السكر من قصب السكر أو بنجر السكر، والتى تعرف باسم المولاس.

ويلعب تركيز السكر دوراً كبيراً فى كفاءة عملية التخمر وإنتاج كحول الإيثانول؛

حيث تتراوح نسبة السكر فى المحاليل المستخدمة تجارياً فى إنتاج الكحول بين ١٠ ٪ و ١٨ ٪، والتركيز المعتاد استخدامه هو ١٢ ٪.

ويجب مراعاة عدم ارتفاع نسبة السكر فى محلول بيئة التغذية لأكثر من ١٨ ٪، حتى لايكون له تأثير عكسى على الكفاءة الإنتاجية؛ نظراً لتأثيره المثبط على خلايا الخميرة، بالإضافة إلى زيادة المدة اللازمة لإتمام عملية التخمر. كما أن استخدام محلولٍ من البيئة الغذائية المحتوية على نسبة سكرٍ تقل عن ١٠ ٪ يعتبر غير اقتصاديّ.

*** إضافة عناصر غذائية:**

على الرغم من احتواء المولاس على معظم العناصر الغذائية اللازمة للتخمر وإنتاج كحول الإيثانول، إلا أن أملاح الأمونيوم تضاف – فى صورة كبريتات أمونيوم أو فوسفات أمونيوم – إلى محلول بيئة التخمر كمصدر للنتروجين والفوسفور؛ حيث يتوقف ذلك على تركيب المولاس.

*** رقم حموضة البيئة:**

يعتبر رقم حموضة ٤–٤,٥ ملائماً لاستكمال تخمر البيئة الغذائية بفعل فطر الخميرة لإنتاج كحول الإيثانول، كما أن هذا الوسط الحامضى يثبط نمو البكتيريا؛ مما يحد من تلوث محلول التخمر بها.

وعند استخدام كميةٍ كبيرةٍ من مادة اللقاح الأولى (البادىء) من الخميرة النشطة، فإنه – تحت هذه الظروف – يمكن الاستغناء عن عمليات التعقيم فى المراحل النهائية من الإنتاج؛ مما يقلل من التكلفة الإنتاجية.

ولكن يجب أن يؤخذ فى الحسبان عدم زيادة مادة اللقاح أو خفض رقم الحموضة لبيئة التخمر لأكثر من اللازم؛ حتى لايؤدى ذلك إلى تكوين منتجاتٍ أخرى غير مرغوبةٍ؛ مثل الجليسرول، بدلاً من تكوين كحول الإيثانول.

*** التهوية:**

تحتاج المراحل الأولى من إنتاج اللقاح الأولى (البادىء) لفطر الخميرة إلى تهويةٍ كافيةٍ لتكوين خلايا جديدة (كتلة حيوية biomass)؛ لذلك يجب دفع هواءٍ معقمٍ بمعدلٍ مناسبٍ فى هذه المرحلة، بينما لايحتاج إنتاج الإيثانول إلى تهويةٍ؛ حيث يتم ذلك فى ظروفٍ لا هوائيةٍ.

*** درجة الحرارة:**

تقع درجة الحرارة الملائمة لإنتاج كحول الإيثانول بين ٢١°م و ٢٧°م، ويجب مراعاة عدم ارتفاع درجة الحرارة خلال عملية التخمر؛ ولذلك يتبع – عادة – تبريد وعاء التخمر بواسطة مرور مواسير يمر بها ماء بارد، تتخلل محلول التخمر.

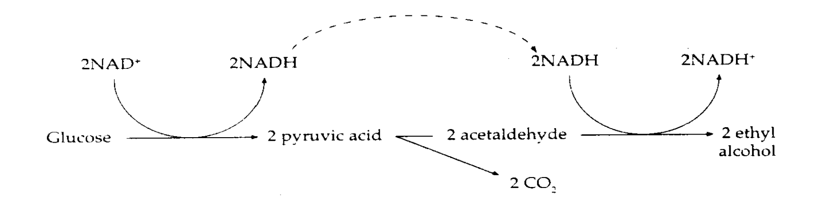
ويؤدى ارتفاع درجة الحرارة فى بيئة التخمر إلى تطاير كحول الإيثانول، كما تنمو البكتيريا الملوثة لبيئة التخمر تحت هذه الظروف.

*** الوقت اللازم للتخمر:**

تستغرق عملية التخمر وإنتاج كحول الإيثانول نحو ٥٠ ساعةً عادةً، وربما أقل من ذلك تبعاً لنوع الطريقة المستخدمة فى الإنتاج، ودرجة الحرارة، وتركيز السكر فى بيئة التخمر المستعملة.

ب- آلية إنتاج كحول الإيثانول:

تجرى عملية التخمر فى ظروفٍ لاهوائيةٍ؛ حيث تستهلك خلايا الخميرة الأكسوجين الذائب فى بيئة التخمر، وبعد ذلك يبدأ تكوين الكحول بفعل خلايا الخميرة على النحو التالى:



جـ- تنقية كحول الإيثانول:

تعتبر هذه المرحلة هى آخر مرحلةٍ فى إنتاج كحول الإيثانول صناعياً. وتجرى هذه المرحلة فى وحدات التقطير؛ حيث يفصل الإيثانول عن بقية محتويات البيئة. وبعد الانتهاء من أول مرحلةٍ للتقطير يصل تركيز الكحول إلى ٦٠٪-٩٠٪.

ويمكن استكمال عمليات التقطير حتى يصل تركيز الكحول إلى نحو ٩٥٪؛ وذلك عن طريق إمراره على وحدات التكرير والتكثيف. وقد تجرى عمليات إزالة للماء **dehydration**؛ للحصول على الكحول المطلق.

د- الإنتاج الصناعي للإيثانول:

يعتبر إنتاج كحول الإيثانول النقى - والذى يطلق عليه اسم جاسوهول **gasohol** - من أفضل الأمثلة التى يمكن الإشارة إليها لإنتاج الكحول الصناعى على نطاقٍ واسعٍ.

فعلى سبيل المثال، تنتج البرازيل الجاسوهول عن طريق تخمير سكر القصب؛ باستعمال فطريات الخميرة؛ حيث يستخدم هذا الكحول كوقودٍ للسيارات. وهناك أمثلة أخرى لإنتاج الإيثانول تجارياً ولكن على نطاقٍ محدودٍ فى الولايات المتحدة؛ حيث يستخدم لذلك نشا الذرة كمادةٍ غذائيةٍ لإنماء الفطر.

ومن ناحيةٍ أخرى تستخدم مخلفات صناعة الورق **spent sulphite liquor** على نطاقٍ محدودٍ لإنتاج الكحول الصناعى، وأيضاً لإنتاج البروتين الميكروبى **single-cell protein** الذى يطلق عليه اسم بروتين التوريولا **Torula protein**.

ومن المواد الأخرى البديلة المستخدمة فى إنتاج الكحول المواد الليجنوسيليلوزية، وكذلك شرش اللبن، ومخلفات تصنيع البطاطس. ولقد ساعد اكتشاف أن الخميرة ***Pachysolen tannophilus*** يمكنها تخمير مادة **D-xylose** إلى كحول إيثانول على الاستخدام الكامل للمخلفات العضوية النباتية كمواد منتجةٍ للكحول بعد تخميرها.

ولقد بدأت الخبرة البرازيلية فى إنتاج الكحول كرد فعلٍ لأزمات البترول خلال سبعينيات هذا القرن، عندما بدأت الحكومة برنامجاً لتحويل قصب السكر إلى كحولٍ؛ للاستخدام الصناعى، وكذلك كوقود للسيارات. وبدأ هذا البرنامج بتحسين إنتاج قصب السكر فى الحقل؛ حتى تم التوصل إلى إنتاج محصولٍ يتراوح بين ٧٥ طناً و ١٠٠ طنٍّ للهكتار؛ حيث كان هذا الإنتاج مرتفعاً بدرجةٍ تكفى للإنتاج الاقتصادى للكحول.

وفى عام ١٩٨٢، زاد استعمال الكحول كوقودٍ للسيارات فى البرازيل أربعة أضعاف، وانخفض استيراد البترول بنسبة ٣٠٪، وكان من المثير للدهشة أن هذا الإنتاج المرتفع من الكحول – عن طريق التخمر – لم يصاحبه أى تقدمٍ معنوىٍّ فى تطوير سلالات الفطر المستخدم فى عملية التخمر، أو فى تقنية التخمر نفسها. وبدلاً من ذلك اعتمد إنتاج كحول الإيثانول فى البرازيل على استعمال خميرة الخباز التجارية **commercial baker's yeast** والتقنية المعتادة.

ويبدو أن إنتاج كحول الإيثانول فى البرازيل سوف يستمر معتمداً على قصب السكر كمادةٍ لإنماء الفطر، بينما هناك جهود فى أبحاثٍ حديثةٍ موجهةٍ لاستعمال دقيق المنيهوت (الكسافا) **manioc meal** والخشب فى التخمر لإنتاج هذا الكحول.

ولقد أمكن تطوير التخمر المباشر للمخلفات السيليلوزية باستخدام بعض الفطريات المحللة للسيليلوز مثل الفطر *Monilia*. وهناك نسبة قليلة نسبيًا من الفطريات الهيفية التى يمكنها تخمير قش النجيليات مباشرةٍ إلى إيثانول، إلا أن هناك فطرياتٍ تشذ عن هذه القاعدة؛ مثال ذلك بعض سلالات الفطر ***Fusarium oxysporum*** التى يمكنها القيام بذلك؛ منتجةٍ كحول الإيثانول.

وهناك كحولات أخرى تنتجها الخمائر؛ مثل كحول الايزوبيوتيل **isobutyl**، والإيزوأميل **isoamyl**؛ حيث تستعمل مشتقاتها مع الخلات **acetate derivatives** لإضفاء نكهة الفاكهة على بعض المشروبات الكحولية.

٢- إنتاج الكحولات العديدة الهيدروكسيل Polyhydric alcohols :

هناك بعض أنواع الخمائر التى تتميز بقدرتها على إنتاج كحولاتٍ عديدة الهيدروكسيل؛ مثال ذلك كحولات الجليسرول، والاريثرول، والارابيتول، والمانيتول، والزيليتول (جدول ١٦).

وتتميز هذه الخمائر بتحملها للآسموزية العالية **osmotolerant**؛ حيث إن معظم هذه الكحولات العديدة الهيدروكسيل عبارة عن نواتج لعمليات التمثيل الغذائى عن طريق دورة الجلكزة **(Embden - Meyerhof pathway)** ودورة السكريات الخماسية المفسفرة **pentose phosphate pathway**.

وتستخدم الكحولات العديدة الهيدروكسيل فى صناعة المحليات الصناعية؛ مثل الارابيتول، والمانيتول، والمالتيتول، والاريثرول، بينما يستخدم الجليسرول على نطاقٍ واسعٍ فى إنتاج المواد الراتنجية التخليقية **synthetic resins**، وفى صناعة الأدوية، ومستحضرات التجميل، ومعاجين الأسنان، وصناعة الصابون، وأيضاً فى صناعة المفرقعات.

وعلى الرغم من هذه الاستخدامات المتعددة للكحولات العديدة الهيدروكسيل فى

مختلف الصناعات الهامة، إلا أن التنافس فى إنتاج الجليسرول - وغيره من هذه الكحولات - وإنتاجه بالطرق الكيميائية، قلل من إنتاجه بواسطة الفطريات؛ نظراً لارتفاع تكاليفها نسبياً.

إلا أنه فى السنوات الأخيرة عاد الاهتمام بإنتاج هذه الكحولات عن طريق التخمرات الفطرية؛ لأسبابٍ تتعلق بصحة الإنسان، وأيضاً لارتفاع أسعار المواد الخام المستخدمة فى التخليق الكيميائى.

ويستخدم فى إنتاج الكحولات العديدة الهيدروكسيل أنواع من الخمائر المتحملة للآسموزية العالية؛ حيث إنها تخلق هذه الكحولات داخل الخلية؛ لتوازن الضغط الآسموزى العالى الموجود خارج الخلية، والناتج من وجود تركيزاتٍ عاليةٍ من الأملاح الذائبة.

جدول (١٦) : إنتاج الكحولات العديدة الهيدروكسل polyhydric alcohols بواسطة فطريات الخمائر (عن Spencer and Spencer, 1978)

نوع الكحول	نوع فطر الخميرة
١- جليسرول **Glycerol**	*Saccharomyces cerevisiae*
	S. bailii
	S. rouxii
	Torulopsis magnoliae
	Pichia farinosa
٢- أرابيتول **Arabitol**	*Endomycopsis capsularis*
	E. chodattii
٣- إريثريتول **Erythritol**	*Candida zeylanoides*
	Trichosporonoides oedocephalis
٤- مانيتول **Mannitol**	*Candida lipolytica*

$$\underset{OH}{\underset{|}{CH_2}}-\underset{OH}{\underset{|}{CH}}-\underset{OH}{\underset{|}{CH}}-\underset{OH}{\underset{|}{CH}}-\underset{OH}{\underset{|}{CH_2}}$$

d- Arabitol د. ارابيتول

$$\underset{OH}{\underset{|}{CH_2}}-\underset{OH}{\underset{|}{CH}}-\underset{OH}{\underset{|}{CH}}-\underset{OH}{\underset{|}{CH_2}}$$

Erythritol اريثريتول

$$\underset{OH}{\underset{|}{CH_2}}-\underset{OH}{\underset{|}{CH}}-\underset{OH}{\underset{|}{CH_2}}$$

Glycerol جليسرول

$$\underset{OH}{\underset{|}{CH_2}}-\underset{OH}{\underset{|}{CH}}-\underset{OH}{\underset{|}{CH}}-\underset{OH}{\underset{|}{CH}}-\underset{OH}{\underset{|}{CH}}-\underset{OH}{\underset{|}{CH_2}}$$

Mannitol مانيتول

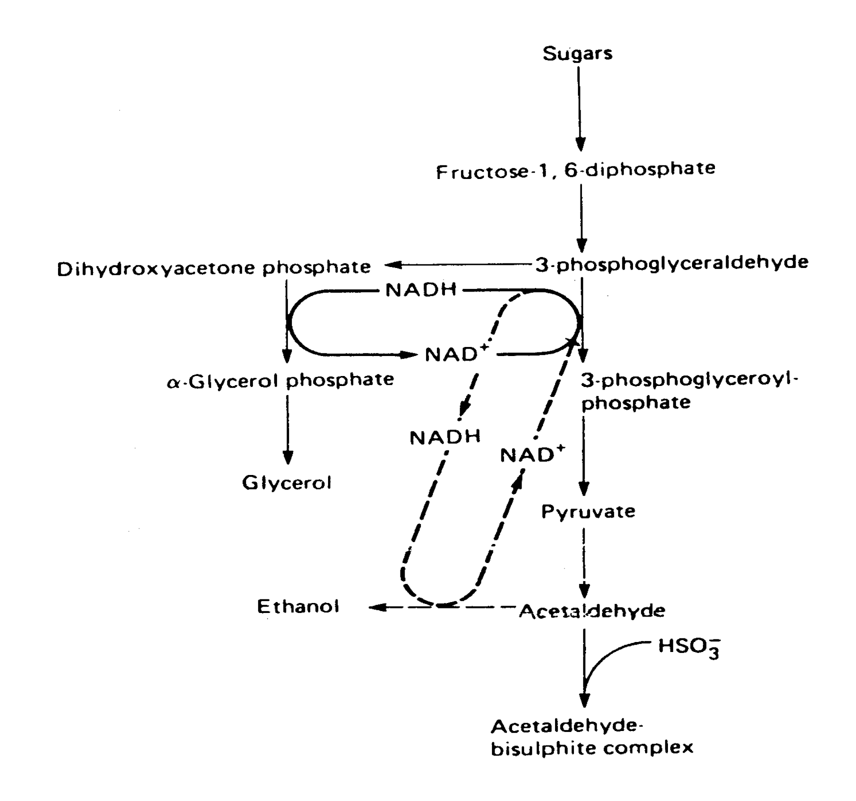
شكل (٥٢) : التركيب الكيميائى لبعض الكحولات العديدة الهيدروكسيل.

وبناءً على ما سبق، تتم تنمية خلايا الخميرة فى بيئةٍ تحتوى على تركيزٍ عالٍ من الأملاح الذائبة؛ حتى تتكون بداخلها الكحولات العديدة الهيدروكسيل بكميةٍ كافيةٍ، ثم تنقل خلايا الخميرة بعد ذلك إلى بيئةٍ غذائيةٍ ذات تركيزٍ منخفضٍ من الأملاح؛ وبذلك يمكن الحصول على الكحول العديد الهيدروكسيل - مثل الجليسرول - وتتم تنقيته بعد ذلك.

وتستخدم - عادةً - بعض السكريات فى بيئة تغذية الفطر؛ مثل المالتوز، والجلوكوز، والسكروز، والفراكتوز. وعند نمو أحد فطريات الخميرة فى مثل هذه البيئة الغذائية - مثل فطر الخميرة ***S. rouxii*** - يتكون الجليسرول والارابينتول **arabinitol** من سكر المالتوز والجلوكوز، بينما تنمو الخميرة ***Torulopsis magnoliae*** على السكروز منتجةً كحول الجلسرول.

كما يمكن لفطر الخميرة ***Endomycopsis bortonii*** تحويل السكروز إلى ارابنيتول، بينما تتشابه الخميرة ***Pichia farinosa*** مع الخميرة ***S. rouxii*** فى قدرتها على إنتاج الكحولات العديدة الهيدروكسيل من الجلوكوز.

ومن ناحية أخرى يمكن لفطر الخميرة ***Candida lipolytica*** إنتاج المانيتول من مركبات الألكان ذات السلاسل المستقيمة **n - alkanes**، بينما تنمو خميرة ***Candida zeylanoides*** على مركبات الالكان السابقة، وتكوّن منها كحول الإريثريتول **erythri-tol** عديد الهيدروكسيل.



شكل (٥٣) : إنتاج الجليسرول عن طريق التخمر الفطرى.

رابعاً: إنتاج السكريات المعقدة Polysaccharides :

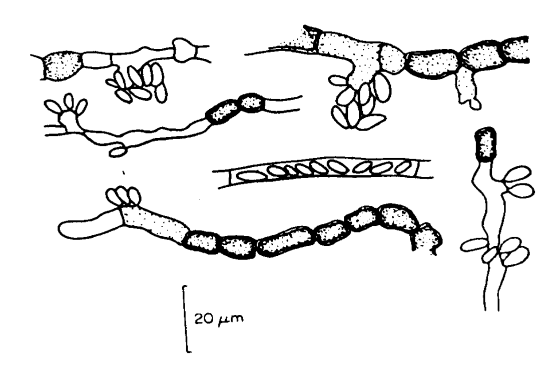
يزداد استعمال السكريات المعقدة ذات المنشأ الميكروبى باطّراد؛ وذلك فى صناعة كثيرٍ من المستحضرات الطبيــة، وأيضــاً فــى بعــض الصناعــات الغذائيــة؛ وذلك لإنتــاج المــواد الهلامية التى تعمل على زيادة قوام بعض المنتجات الغذائية، أو تجعلها أكثر صلابةً.

وهناك نوعان من السكريات المعقدة التى يتم تكوينها عن طريق بعض الفطريات؛ هما السكليروجلوكان **scleroglucan**، والبليولان **pullulan**؛ حيث يتم استخدامهما فى بعض المجالات السابقة على نطاقٍ تجاريّ.

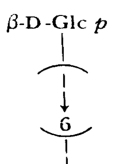
ويعتبر السكلريوجلوكان معقداً من وحدات الجلوكوز التى ترتبط – بعضها ببعضٍ – برابطةٍ جليكوزيدية من النوع بيتا ١,٣، وأحياناً من النوع بيتا ١,٦ **(ß-glucan)**. ويتم إنتاج هذا السكر المعقد بواسطة الفطر ***Sclerotium glucanicum***، والفطر ***S. rolf-sii*** والفطر ***S. delphinii*** بالإضافة إلى بعض الأنواع التابعة للجنس ***Helotium***.

وعلى العكس من ذلك، يتكون البليولان من وحدات الفا ١,٤ **α (1-4) - glu-can**، ويتم تكوينه عن طريق الفطر ***Aureobasidium pullulans*** الشبيه بالخميرة. وينمو هذا الفطر على صورةٍ تجمع بين صفات الفطريات الهيفية والخمائر الحقيقية.

ولا يعتبر البليولان جزيئاً مفرداً، ولكنه معقد كبير الحجم، ذو وزنٍ جزيئيّ متغير. ويتميز هذا المركب بلزوجته العالية عند إذابته فى الماء، كما أن له قدرة التصاقٍ عاليةً، بالإضافة إلى عدم سميته.



شكل (٥٤) : الفطر *Aureobasidium pullulans*



-[→3-β-D-Glc p-(1→3)-β-D-Glc p(1→3)-β-D-Glc p(1→]$_n$

شكل (٥٥) : وحدات متكررة من التركيب البنائى للسكليروجلوكان المنتجة بواسطة الفطر *Sclero-tium glucanicum*.

ويستعمل البليولان تجارياً فى اليابان لإنتاج المواد المغلفة للعبوات الغذائية. وتصل أقصى إنتاجية لهذا السكر المعقد عند رقم حموضة عالية فى البيئة الغذائية، والتى تعمل على تشجيع نشاط الفطر *A. pullulans*.

وهناك مواد أخرى تكونها بعض الفطريات، تستعمل كمواد لاصقة قابلة للذوبان فى الماء؛ مثال ذلك مادة فوسفومانانات **phosphomannans** التى يكونها فطر الخميرة من الجنس *Hansenula*. وبالإضافة إلى ما سبق، فإن بعض أنواع الأجناس *Pachyso-len* و *Pichia* و *Hansenula* تنتج مانانات مفسفرة خارج خلاياها **extracellular**

phosphorylated mannans، تتميز بمقاومتها لفعل الأحياء الدقيقة؛ حيث تستعمل كمادةٍ تزيد من قوام المحاليل، أو تعمل على تصلبها، أو كمادةٍ ناشرةٍ dispersing agent.

α-D-Glc p-(1→4) α-D-Glc p-(1→4)-α-D-Glc p
(1→6)
α-D-Glc p-(1→4)-α-D-Glc p-(1→4)-α-D-Glc p
(1→6)
α-D-Glc p-

شكل (٥٦) : التركيب البنائى للبوليولان Pullulan.

ويعتبر الليفان Levan مركبًا معقدًا طبيعيًا يتكون من سكر الفركتوز؛ حيث يتكون كناتج ثانويّ غير مرغوب فيه خلال مراحل إنتاج عصير الفاكهه. ويستفاد من الليفان فى إنتاج مواد تزيد من القوام thickeners، ومواد لاصقة صناعية industrial gums، ومواد محلية sweeteners، بالإضافة إلى بعض الاستعمالات الطبية، حيث يستعمل الليفان كمادة مضافة لبلازما الدم blood plasma extenders.

ولمادة الليفان نواحٍ تطبيقية عديدة فى مجال التصنيع الغذائى وتصنيع المستحضرات الصيدلية وصناعة مواد التجميل وأحبار الطباعة، كما أنه يعتبر بديلاً للصمغ العربى. وينتج الليفان بواسطة عديدٍ من أنواع البكتيريا وفطريات الخمائر، بالإضافة إلى بعض الفطريات الهيفية؛ مثال ذلك فطريات *Aspergillus sydowii* و *A. versicolor*.

خامساً: إنتاج الشيتوسان عن طريق التخمر:

يعتبر الشيتين **chitin** مادةً غير قابلةٍ للذوبان؛ لذا فهى لم تستخدم حتى الآن بطريقةٍ تجاريةٍ فى الصناعة. وتوجد المشتقات اللاخلّية للشيتين **deacylated deriva-tive**؛ مثل الشيتوسان **chitosan** فى الطبيعة بدرجةٍ قليلةٍ، بينما تستخدم بدرجةٍ كبيرةٍ فى الصناعة.

وفى اليابان – على سبيل المثال – يستعمل شيتين هياكل سرطان البحر **crab-shell chitin** سنوياً فى إنتاج حوالى مليون كيلو جرام من الشيتوسان الذى يستخدم فى تنقية مياه الصرف الصحى؛ وذلك كمواد تجميع المواد العالقة **flocculating agent** والتى تطفو على السطح.

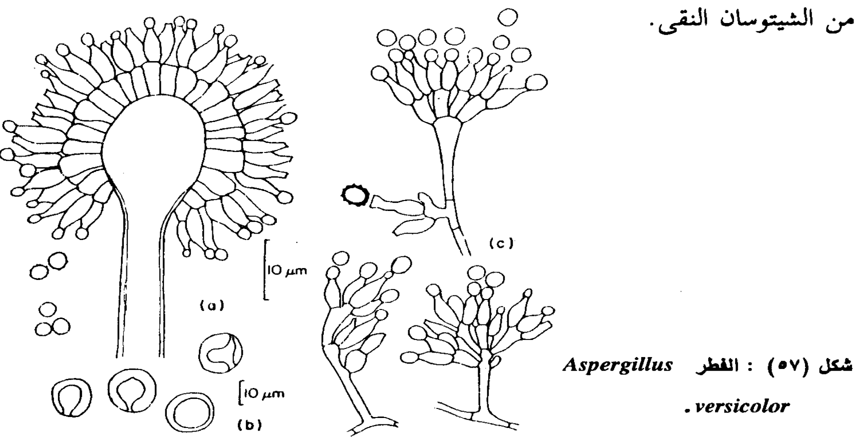
ويستعمل الشيتوسان أيضاً فى زيادة كفاءة استخراج زيت البترول الخام من الآبار المستنزفة. ومن الاستخدامات الأخرى للشيتوسان استعماله كمادةٍ غرويةٍ للصق الورق، وكمادةٍ مخلبيةٍ **chelating agent** للأيونات المعدنية.

وفى الأونة الأخيرة، يعتبر المحار **shellfish** – وهو من الحيوانات المائية الصدفية – المصدر الرئيسى للشيتوسان، إلا أن هذا المصدر متغير وموسمى؛ لذلك يسعى العالم للبحث عن مصدرٍ بديلٍ لإنتاج الشيتوسان؛ متمثلاً فى إنتاجه عن طريق التخمر باستعمال بعض الفطريات.

وهناك فطريات تتبع رتبة الميوكورات **order Mucorales** تحتوى جدرها الخلوية على مركب الشيتوسان؛ مثال ذلك الفطر ***Mucor rouxii***، و ***Absidia coerulea***. ويمكن إنماء الفطرين السابقين على بيئةٍ تحتوى على المولاس وأملاح الأمونيا عند

رقم حموضة ٤,٥ فى وجود غاز الأمونيا؛ حيث يتم الحصول على الشيتوسان قبل أن يصل نمو هذه الفطريات إلى مرحلةٍ متقدمةٍ، وإلا كان من الصعب استخلاص الشيتوسان من جدر الخلايا.

وتتلخص طريقة استخلاص الشيتوسان من جدر خلايا هذه الفطريات فى غسل هيفات الفطر؛ للتخلص من آثار البيئة التى كان ينمو فيها، ثم يتم غليانها فى محلول ٢٪ هيدروكسيد الصوديوم؛ للتخلص من البروتينات **deproteination**؛ وذلك لمدة ساعة، ثم تعامل بعد ذلك بمادة بوروهيدريد الصوديوم **sodium borohydride** لتثبيط الأكسدة. وعند توفر الظروف المثلى اللازمة للتخمر، تنتج الهيفات الفطرية إنتاجاً جيداً من الشيتوسان النقى.



شكل (٥٧) : الفطر *Aspergillus versicolor*.

(a)– كونيديات conidia ورأس كونيدية conidial head.

(b) – خلايا مفرغة Hulle cells .

(c) – الفطر *A. sydowii* بدون تكوين الرأس الكونيدية (مشابه للفطر السابق).

سادساً: إنتاج الإنزيمات الفطرية:

١- أهمية الانزيمات الفطرية:

تنتج الفطريات أنواعاً متعددةً من الإنزيمات المحللة التي تُمَكِّنها من تحليل عديدٍ من المركبات المعقدة الموجودة في الطبيعة (جدول ١٧). وعلى الرغم من ذلك فإن عدداً قليلاً نسبياً من هذه الإنزيمات هو الذي ينتج على نطاقٍ تجاريّ؛ فعلى سبيل المثال، ينتج إنزيم **glucose aerohydrogenase** – وهو الإنزيم المسئول عن تحول الجلوكوز إلى حمض الجلوكونيك **gluconic acid** – كناتجٍ ثانويّ خلال مراحل إنتاج حمض الجلوكونيك بواسطة الفطر ***Aspergillus niger***.

وحيث إن هذا الإنزيم ينتج داخل خلايا الفطر **intracellularly**، فإنه يجب الحصول عليه من الهيفات الفطرية بعد طحنها، ثم الانتظار لفترةٍ حتى يبدأ التحلل الذاتي لها وتحرر الإنزيم. ونتيجة لأن هذا الإنزيم ينتج فوق أكسيد الأيدروجين H_2O_2 الذي له تأثير مضاد للميكروبات، اعتبر من المضادات الحيوية وأطلق عليه اسم **notatin** أو **penicillin B**.

ويضاف إنزيم **glucose aerohydrogenase** إلى البيرة وإلى ثمار الفاكهة المعلبة، وكذلك إلى المشروبات غير الكحولية؛ وذلك بغرض احتفاظها بلونها ونكهتها الطبيعية المرغوبة. وهناك استخدام آخر لهذا الإنزيم هو إزالة الجلوكوز من البيض قبل تجفيفه، وهذه العملية تمنع تلون البيض المجفف باللون البني.

جدول (١٧) : مصادر الإنزيمات الصناعية industrial enzymes ومجال استخدامها (عن Wainright, 1992) .

الإنزيم	مصدره	مجال استخدامه
١ ـ إنزيم α -amylase	*Aspergillus oryzae*	تحليل سكريات المولت.
٢ ـ إنزيم amyloglucosidase	*Aspergillus niger*	صناعة الدكستروز من النشا والجلوكوز الغذائى.
٣ ـ إنزيم pullulanase	*Aureobasidium pullulans*	النشا الخالى من المجاميع الجانبية.
٤ ـ إنزيم ß - glucanase	*Penicillium emersonii*	صناعة البيرة والتصنيع الغذائى.
٥ ـ إنزيم neutral protease	*Aspergillus oryzae*	صناعة البيرة ـ صناعة الخبز ـ زيادة الطعم والنكهة .
٦ ـ إنزيم alkaline protease	*Aspergillus oryzae*	إضافة للمنظفات الصناعية.
٧ ـ إنزيم Cellulase	*Trichoderma viride*	تحليل السليولوز مائيا.
٨ ـ إنزيم invertase	*Aspergillus niger*	صناعة الحلويات.
٩ ـ إنزيم pectinase	*Aspergillus niger*	صناعة النبيذ من الفواكه.
١٠ ـ إنزيم anthocyanase	*Aspergillus niger*	إزالة اللون من عصير العنب.
١١ ـ إنزيم المنفحة rennet	*Mucor miehei.*	تجبن اللبن.
١٢ ـ إنزيم glucose isomerase	*Mucor spp.*	صناعة السكر العالى الفراكتوز
١٣ ـ إنزيم lipase	*Aspergillus spp.*	تحليل الدهون
١٤ ـ إنزيم lactase	*Saccharomyces lactis*	صناعات منتجات الشرش.
١٥ ـ إنزيم hemicellulase	*Aspergillus niger*	صناعة الخبز ـ صناعة اللبان.
١٦ ـ إنزيم glucose oxidase ١٧ ـ إنزيم catalase	*Aspergillus niger*	يدخل فى بعض عمليات التصنيع الغذائى والتحليل المعملى للأغذية.
١٨ ـ إنزيم acid protease	*Mucor pusillus*	صناعة الخبز ـ صناعة البيرة
١٩ ـ إنزيم penicillin acylase	*Penicillium chrysogenum*	انتاج البنسلين بطريقه نصف تخليقيه
٢٠ ـ إنزيم glucoamylase	*Asperillus awamori* *A - oryzae*	صناعة المولت

جدول (١٨) القيمة الإجمالية العالمية للإنزيمات الفطرية المستخدمة فى الصناعة (قيم تقريبية عن Wainwright, 1992) .

الإنزيم	القيمة الإجمالية بالمليون دولار أمريكى
١ ـ **Alkaline proteases**	١٥٠
٢ ـ **Neutral proteases**	٧٠
٣ ـ **Rennin**	٦٠
٤ ـ إنزيمات أخرى محللة للبروتينات	٥٠
٥ ـ **Isomerases**	٤٥
٦ ـ **Amylases**	١١٠
٧ ـ **Pectinases**	٤٠
٨ ـ إنزيمات أخرى محللة للكربوهيدرات	١٠
٩ ـ **Lipases**	٢٠
١٠ ـ إنزيمات أخرى	٥٥
إجمالى	٦٠٠

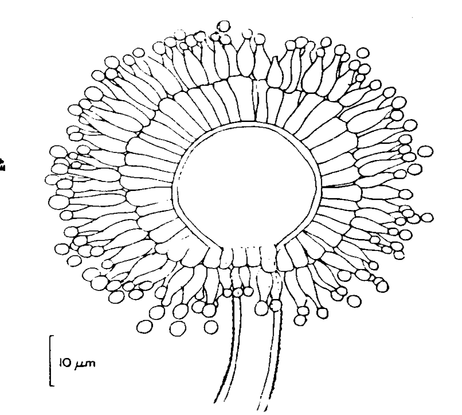
وتنتج الإنزيمات المحللة للبروتينات **proteases** بواسطة عديد من الأنواع الفطرية، وخاصة الفطر ***Aspergillus oryzae***؛ حيث إن أكثر من نصف الخبز المنتج فى الولايات المتحدة يتم تصنيعه بواسطة الإنزيمات المحللة للبروتينات الناتجة من هذا الفطر. كما تستخدم مثل هذه الإنزيمات فى تطرية اللحوم قبل طهيها، وأيضاً فى دباغة الجلود وصناعة المنظفات الصناعية.

وتستعمل الإنزيمات المحللة للبكتين **pectinases** ذات المنشأ الفطرى فى تحضير عصير الفاكهة؛ حيث تعمل على تنقية العصير وخلوه من الشوائب والعوالق البكتينية؛ مما يحسن عملية الترشيح للحصول على عصير رائق. ويتم إنتاج هذه الإنزيمات عن

طريق تخمر المواد الصلبة **solid fermentation** باستعمال أنواعٍ فطريةٍ تابعةٍ للجنسين ***Penicillium*** و ***Aspergillus***، وكذلك عن طريق تخمر المواد السائلة باستعمال الفطر ***A. ochraceus***.

كما تستعمل الإنزيمات المحللة للنشا **amylases** ذات المنشأ الفطرى فى صناعة البيرة **brewing industry**؛ وذلك لتحويل المواد النشوية إلى سكرياتٍ من خلال التخمر الكحولى. وأيضاً تستعمل هذه الإنزيمات فى إزالة ترسيبات النشا **starch hazes**، وكذلك فى إنتاج البيرة الخالية من الدسكترين (والتى يطلق عليها البيرة المنخفضة الطاقة **low-calorie beer**). وتستعمل هذه الإنزيمات فى صناعة الحلويات؛ وذلك لإنتاج شراب الشيكولاتة من الكاكاو.

ويعمل تزايد تخمر المخلفات العضوية على توفير مثل هذه الإنزيمات المفيدة على المدى القريب، وأيضاً فى المستقبل المنظور؛ فعلى سبيل المثال، هناك مدى واسع من الإنزيمات التى تم عزلها من هيفات الفطريات المستخدمة فى الصناعة؛ مثل الفطر ***A. niger*** المستخدم فى إنتاج حمض الستريك؛ حيث ينتج من هيفاته إنزيم **acid phosphatase**، بالإضافة إلى الإنزيمات المحللة للبكتين **pectinases**، والمحللة للبروتين **proteases**، والمحللة للسيليلوز **cellulases** والمحللة للجلوكان **glucanases**.



شكل (٥٨) : الفطر ***Aspergillus ochraceus***
يوضح الرأس الكونيدى **conidial head**.

جدول (١٩) : الإنزيمات المفرزة من الخمائر ذات الاستخدامات التطبيقية التجارية
(عن Wainwright, 1992)

الإنزيمات	نوع الخميرة	التطبيق التجارى
١ ـ الانفرتاز Invertase	*Saccharomyces cerevisiae*	الحلوى ذات القلب الرخو
٢ـ بيتاجالاكتوسيداز Beta - galactosidase	*Kluyveromyces lactis*	الأطعمة الخالية من سكر اللاكتوز
٣ ـ أميلاز Amylase	*Schwanniomyces alluvius*	تحول النشا
٤ ـ جلوكواميلاز Glucoamylase	*S. diastaticus*	تحول النشا
٥ ـ ليباز Lipase	*Candida cylindracae*	إنتاج الحساء
٦ـ ألفا جالاكتوسيداز Alpha - galactosidae	*Pichia guilliermondii*	تصنيع المولاس

وهناك طلب متزايد على الإنزيمات التى تضاف إلى المواد المنظفة، فتساعد على إزالة البقع من الأنسجة فى درجات الحرارة المنخفضة، وبدون الحاجة إلى إضافة مواد مذيبة.

إلا أنه من المؤسف أن إنتاج الإنزيمات المحللة للدهون **lipases** من الأحياء الدقيقة منخفض، وليس له أهمية تجارية. ولقد ازداد إنتاج مثل هذه الإنزيمات فى عام ١٩٨٨ ؛ وذلك عندما أنتجت شركة **Norsk Hydro** إنزيم **Lipolase**، وهو أول إنزيم محلل للدهون ينتج بصورة تجارية فى العالم، ويستعمل فى أغراض التنظيف.

ويعمل هذا الإنزيم بأقصى كفاءة له فى درجات الحرارة المنخفضة (حوالى ٣٠°م)، وتم انتاج مسحوق غسيل يابانى **Japanese washing powder** أطلق عليه

الاسم التجارى **Hi-Top Lipolase**. ويعتبر الإنزيم المحلل للدهون **Lipolase** هو أول إنزيم يستعمل فى التنظيف ينتج عن طريق تقنية إعادة توليف الحمض النووى **recombinant DNA technology**.

وفى التقنية السابقة يتم الحصول على الجين من سلالةٍ مختارةٍ من الفطر الهيفى ***Humicola***، ثم ينقل إلى الفطر ***Aspergillus oryzae***؛ الذى يسهل إنماؤه بالمقارنة بالفطر الأول؛ منتجاً كميةً عاليةً من هذا الإنزيم.

وعادةً ما تستعمل طرق تقليدية فى إزالة الشعر من جلد الحيوانات؛ حيث تعتمد مثل هذه الطرق على استعمال طريقة سلفيد الكالسيوم **lime sulphide**؛ الذى يؤدى إلى تلوث الأنهار بمخلفات الصرف الصحى. وكنتيجةً لذلك، فإن صناعة دباغة الجلود فى العالم تكاد تتوقف؛ نظراً للإجراءات الصارمة الخاصة بحماية البيئة من التلوث.

ولعل الوسيلة الفعالة لحل هذه المشكلة هو استعمال الإنزيمات فى إزالة الشعر من جلد الحيوانات. ولقد اتبعت طريقة إزالة الشعر إنزيمياً **enzymic depilation** باستعمال الإنزيمات القاعدية المحللة للبروتين **alkaline proteases** التي تنتج عن طريق عزلات جديدة للفطر ***A. flavus***. ولقد أظهر التخمر الصلب باستعمال هذا الفطر أنه أكثر فاعليةً في إنتاج الإنزيمات الضرورية، بالمقارنة بالتخمر السائل **submerged fermentation**.

ومن ناحية أخري، وجد أن بعض الخمائر تستطيع النمو علي كحول الميثانول، وخاصةً تلك الأنواع التي يطلق عليها اسم **methylotrophic species**. ويمكن لمثل هذه الأنواع من الخمائر عند إنمائها في ظروف قلة الميثانول أن تنتج إنزيم **alcohol dehydrogenase** بنسبةٍ عاليةٍ تصل إلي ٣٥٪ من محتوياتها من البروتين القابل للذوبان **soluble protein content**.

ويمكن عزل هذا الإنزيم من فطر الخميرة ***Pichia pastoris***؛ حيث يستعمل بصفة رئيسية كوسيلة لتقدير المحتوى الكحولى، كما يشجع هذا الإنزيم عملية الأكسدة **generates hydrogen peroxidase**؛ ولذلك فهو يعتبر عاملاً مزيلاً للألوان **bleach-ing agent**.

وفي النهاية، فإن إنزيم **naraginase** – الذي ينتج من الفطر ***A. niger*** – يستعمل في أغراض غير مألوفة؛ مثل إزالة مادة النارجين **nargin** ذات الطعم المر من عصير البرتقال.

٢- الإنتاج التجارى للإنزيمات الفطرية:

أ- إنزيمات الأميليز:

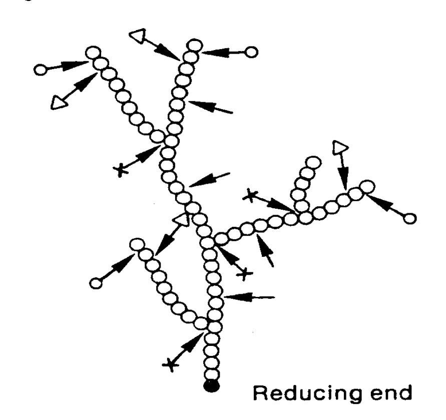
ترجع أهمية هذه المجموعة من الإنزيمات إلى دورها فى تحويل النشا إلى سكريات؛ حيث تستخدم فى عديد من الصناعات الغذائية، وفى الاستفادة من بعض المخلفات الزراعية.

وتشمل هذه المجموعة من الإنزيمات إنزيم ألفا أميليز **α-amylase**، وبيتا أميليز **β-amylase**، وجلوكو أميليز **glucoamylase**، وآيزواميليز **iosamylase**، وبوليولانيز **pul-lulanse**. ويوضح شكل (٥٩) الكيفية التى تحلل بها هذه الإنزيمات جزىء النشا.

*** إنزيم ألفا أميليز:**

يعتبر هذا الإنزيم (**1,4 - α - glucan - glucanhydrolase**) من الإنزيمات التى تفرزها خلايا الفطر خارجياً؛ حيث يعمل هذا الإنزيم على تحليل الرابطة الجليكوزيدية ١,٤. ويقوم هذا الإنزيم بتكسير الجزىء داخلياً، بينما لا يؤثر على الروابط الجليكوزيدية ١,٦.

وهناك أنواع عديدة من الكائنات الحية الدقيقة (بكتيريا وفطريات) تقوم بإفراز هذا الإنزيم، وتختلف فيما بينها فى درجة تحليل النشا، ورقم حموضة البيئة المناسب، والمدى الحرارى الملائم لنشاطها الحيوى.



شكل (٥٩) : الكيفية التى تحلل بها إنزيمات مجموعة الأميليز جزىء النشا.

ويطلق على الإنزيم الذى ينتج عن نشاطه الحيوى سكريات حرة اسم «الأميليز السكرى **saccharogenic amylase**»، بينما يطلق اسم «الأميليز المحلل (المسيل) للنشا **starch liquefying amylase**» على الإنزيم الذى يحلل جزىء النشا إلى مركبات أقل تعقيداً دون تكوين سكريات حرة. وقد يكوّن الكائن الدقيق مشابهاً واحداً من مشابهى إنزيم ألفا أميليز السابقين، أو قد يكونهما معاً فى نفس الوقت.

وتتميز عديد من أنواع الفطريات بإنتاجها لإنزيم ألفا أميليز؛ مثال ذلك الأنواع التابعة للأجناس ***Aspergillus***، و ***Penicillium***، و ***Cephalosporium***، و ***Mucor***، و

Candida، و ***Neurospora***، و ***Rhizopus***. ويتراوح الوزن الجزيئى لإنزيمات هذه الفطريات بين ٥٠ ألف دالتون و ١٠٠ ألف دالتون. ويحتوى بروتين الإنزيم على كمية كبيرة من التيروسين والتربتوفان، كما تحتاج هذه الإنزيمات إلى أيون الكالسيوم كمثبت **stabilizer**؛ وذلك لحفظ خصائص الإنزيم الكيميائية والطبيعية.

وعلى الرغم من إمكانية إنتاج إنزيم ألفا أميليز من بعض أنواع البكتيريا والفطريات المختلفة، إلا أن الاستخدام التجارى للإنزيم البكتيرى أكثر بكثير من نفس الإنزيم المنتج بواسطة الفطريات، وخاصة من الأنواع التابعة للجنس ***Aspergillus***.

فعلى سبيل المثال يستخدم إنزيم ألفا أميليز المفرز من بكتيريا جنس ***Bacillus*** فى معاملة النشا المستخدم فى إنتاج الجلوكوز والمالتوز والفركتوز، وكذلك فى صناعة الكحول لتحليل النشا قبل إضافة المولت، وفى صناعة البيرة لتحليل المواد النشوية المضافة، وفى صناعة السكر لتحسين قدرة محاليل سكر القصب على الترشيح.

كما يستخدم هذا الإنزيم فى صناعة الورق؛ وذلك لتحليل النشا دون إنتاج سكر لاستخدامه كمادة لاصقة، وفى صناعة النسيج لإزالة النشا على درجات الحرارة العالية بالطريقة المستمرة، وفى صناعة الأعلاف لتحسين الاستفادة الغذائية؛ وذلك عند استخدام مخلفات الشعير فى تغذية الدواجن والعجول، وفى صناعة المنظفات الصناعية لزيادة قدرتها على إزالة المواد النشوية، خاصة المنظفات المستخدمة فى غسالات الأطباق.

بينما يضاف الإنزيم الفطرى – الناتج غالباً من الجنس ***Aspergillus*** – إلى حبوب بعض سلالات القمح التى تتميز بخلوها من هذا الإنزيم وذلك أثناء طحنها لإنتاج دقيق يحتوى على هذا الإنزيم، بحيث يصلح لصناعة الخبز ومنتجاته، نظراً لأهمية هذا الإنزيم فى زيادة كمية المواد الكربوهيدراتية القابلة للتخمر.

وبالإضافة إلى ما سبق، يستخدم إنزيم ألفا أميليز المفرز من الفطريات فى صناعة البيرة، وذلك لزيادة القدرة التخميرية لحبوب الشعير المستخدمة، وأيضاً لتحسين صفات

البيرة. كما يستعمل هذا الإنزيم فى تحليل النشا قبل إضافة المولت فى صناعة الكحول.

ويمكن إنتاج إنزيم الفا أميليز من الفطريات، وذلك بواسطة الطريقة المستمرة، إلا أنه يمكن التحكم فى إنتاجه عن طريق بعض المواد المنظمة **regulators**. ويعتبر الفطر ***Aspergillus oryzae*** من أكثر الفطريات المستخدمة فى الإنتاج التجارى لهذا الإنزيم، حيث يتم إنماؤه على بيئة غذائية محددة التركيب.

وتحتوى البيئة المستخدمة فى هذا الشأن على : ٨٪ نشا، ١,٢٪ نترات صوديوم، ٠,١٪ فوسفات ثنائى البوتاسيوم، ٠,١٪ كبريتات مغنسيوم، ٠,٠٥٪ كلوريد بوتاسيوم، ٠,٠٠٣٪ كبريتات حديدوز، ٠,٠٨٪ نترات مغنسيوم، ٠,٠٥٪ فوسفات أحادى المغنسيوم، ٢,٠٪ مستخلص مولت.

ويتم تحضين الفطر لفترة حوالى ٣-٤ أيام على درجة حرارة ٢٨-٣٠°م، حيث ينتج هذا الإنزيم، ويظل محتفظاً بخواصه الطبيعية والكيميائية فى رقم حموضة يتراوح بين ٥ و ٨، خاصة فى وجود أملاح الكالسيوم.

*** إنزيم بيتا أميليز:**

ينتج هذا الإنزيم **ß- amylase(α - 1,4 - glucan - maltohydrolase)** فى النباتات بصورة أساسية، إلا أن هناك عديداً من الكائنات الحية الدقيقة تقوم بإنتاجه، مثل بعض الأنواع البكتيرية التابعة للأجناس ***Bacillus*** و ***Streptomyces*** و ***Pseudomonas***، بالإضافة إلى بعض الفطريات مثل ***Rhizopus japanicus***.

وعادة ما يتم جمع العزلات البرية **wild types** من الكائنات الدقيقة المنتجة لهذا الإنزيم، حيث نلجأ إلى عدة وسائل لتحسين قدرتها على إنتاجه. ومن هذه الوسائل الطفرات، التى يمكن عن طريقها الوصول إلى سلالات جديدة ذات إنتاجية فائقة من الإنزيم تصل إلى حوالى ٢٠٠ ضعف العزلة البرية الأصلية.

ويؤدى نشاط هذا الإنزيم على النشا إلى إنتاج سكر المالتوز، بالإضافة إلى بعض الدكسترينات. ولا يحتاج إنزيم بيتا أميليز إلى الكالسيوم لكى يظل محتفظاً بخواصة الطبيعية والكيميائية، لذا يستخدم هذا الإنزيم فى إنتاج شراب المالتوز.

وتتراوح درجة الحرارة المثلى لنشاط إنزيم بيتا أميليز بين ٣٧-٥٥°م، بينما رقم الحموضة المناسب هو ٦-٧. وتعمل دلائل الثيول **thiol-reagents** على تثبيط فعل هذا الإنزيم، مثل دليل **p-chloromercuribenzoate**، وكذلك تفعل الأكسدة.

*** إنزيم جلوكو أميليز:**

يؤدى إنزيم جلوكو أميليز **glucoamylase (α- 1,4 glucanglucohydrolase)** إلى فصل وحدات الجلوكوز من جزىء النشا، وذلك من نهايته الطرفية غير المختزلة. إلا أن تأثير هذا الإنزيم على تحليل المالتوز بطىء، نظراً لعدم قدرته على تحليل الرابطة الجليكوزيدية ١-٦.

ونظراً لما سبق، فإنه ينتج عن تحليل جزىء النشا بواسطة إنزيم جلوكو أميليز جلوكوز ومالتوز، بالإضافة إلى بعض الدكسترينات.

ويستخدم فى إنتاج هذا الإنزيم عديد من الفطريات، مثال ذلك ***Aspergillus niger*** و ***A. oryzae*** و ***A. awamori*** و ***Rhizopus niveus*** و ***R. delemar*** و ***R. formosaen-sis*** و ***R. javanicus***.

وفى أوروبا والولايات المتحدة ينتج إنزيم جلوكو أميليز تجارياً باستعمال الفطر ***A. niger*** والفطر ***R. niveus***؛ وذلك باتباع تقنية التخمر العميق **deep fermentation**، فى أوعية تخمر يصل حجمها إلى نحو ١٥٠ متراً مكعباً.

ولقد تمت تجربة انتاج هذا الإنزيم باتباع تقنية الدفعات المتزايدة **fed batch culture**، حيث يستغرق ذلك حوالى ٣٢٠ ساعة. ويمكن للسلالة الفطرية الواحدة إنتاج أكثر من مشابه لنفس الإنزيم **isoenzyme**.

فعلى سبيل المثال، ينتج الفطر ***Aspergillus awamori var. kawachi*** ثلاثة مشابهات لإنزيم جلوكو أميليز، يحلل أحدهما نشا الذرة الخام، بينما لايمكن للمشابهين الآخرين تحليله. لذلك فإنه يجب الاهتمام بمعرفة نوع مشابه الإنزيم المنتج بواسطة الفطر، واستخدام سلالات فطرية عالية الإنتاج لهذا المشابه الإنزيمى فى الإنتاج التجارى لإنزيم جلوكو أميليز.

ويجب أن تحتوى بيئة الإنتاج على نشا، حيث إن النشا يعمل على حث الإنزيم على النشاط. وعلى العكس من ذلك يعمل الجلوكوز وحمض الجلوتاميك واللاكتوز على تثبيط نشاط الإنزيم تثبيطاً أيضياً **catabolic repression**.

وتتراوح فترة إنتاج إنزيم جلوكو أميليز نحو ٣-٥ أيام، وذلك بالتحضين على درجة حرارة تتراوح بين ٢٨°م إلى ٣٥°م تبعاً لنوع سلالة الفطر المستخدمة فى الإنتاج. وقد تنتج بعض سلالات الفطر إنزيم ألفا أميليز بجانب إنتاجها لإنزيم جلوكو أميليز وذلك تحت نفس الظروف.

وبالإضافة إلى ذلك، نجد أن ظروف اعداد جراثيم الفطر المستخدم فى الإنتاج تحدد كمية إنزيم الجلوكوأميليز المنتجة. فعند استخدام بيئة غذائية غنية تحتوى على مستخلص المولت، فإن الفطر يفقد أكثر من نصف قدرته على إنتاج الإنزيم بعد ٦ مرات نقل، بينما تؤدى تنمية الفطر على بيئاتٍ غذائيةٍ تحتوى على الاحتياجات الأساسية - مثل بيئة زابكس/دوكس - إلى المحافظة على إنتاجية الإنزيم بمعدل مرتفع، إلا أن أعداد الجراثيم تكون منخفضة.

ب- الإنزيمات المحللة للروابط الجليكوزيدية ٦،١:

تعمل هذه الإنزيمات على تحليل الروابط الجليكوزيدية الجانبية ٦،١ للأميلوبكتين. وتضم هذه الإنزيمات مجموعتين: الأولى تعمل مباشرة على الأميلوبكتين مثل إنزيم بوليولانيز **pullulanase** وايزو أميليز **isoamylase**، والثانية ذات تأثير غيرمباشر بعد التعديل الإنزيمى الذى تقوم به إنزيمات الأميليز الأخرى.

وإنزيم بوليولانيز عبارة عن الفاجلوكاناز، وهو يحلل الأميلوبكتين والبوليولان. وكان هذا الإنزيم ينتج بواسطة الفطر ***Pullaria pullulans***. أما إنزيم أيزوأميليز فإنه لا يحلل البوليولان. وهناك أنواع مختلفة من البكتيريا المنتجة لهذه الإنزيمات، مثل ***Bacillus polymyxa*** و ***Enterobacter aerogenes***.

جـ- إنزيمات تحليل البروتين proteases:

تجيء هذه الإنزيمات فى المرتبة الثانية بعد إنزيمات الأميليز من ناحية إنتاجها التجارى فى العالم، حيث يصل معدل الإنتاج العالمى السنوى منها إلى نحو ٥٠٠ طن (محسوب على أساس البروتين النقى).

وتستخدم هذه الإنزيمات فى صناعة المنظفات الصناعية وصناعة الأدوية، ومنتجات الجلود، وصناعة الأغذية، والأفلام الحساسة، وتصنيع البروتين المتحلل ومعالجة المخلفات العضوية البروتينية.

وتقسم إنزيمات تحليل البروتين إلى ثلاثة أقسام رئيسية تبعًا لرقم حموضة وسط التفاعل، وهى البروتييز الحامضى، والبروتييز القلوى، والبروتييز المتعادل.

*** البروتييز القلوى alkaline protease :**

على الرغم من قدرة بعض الفطريات على إنتاج هذا الإنزيم، مثل ***Aspergillus niger*** و ***A. sojae*** و ***A. flavus*** و ***A. oryzae***، إلا أن معظم الإنتاج التجارى لهذا الإنزيم يتم الحصول عليه من بعض الأنواع التابعة لجنس البكتيريا ***Bacillus***، والذى يستخدم فى صناعة المنظفات الصناعية.

ويتميز الإنزيم البكتيرى بثباته تحت ظروف الحرارة المرتفعة، وفى مدى واسع من رقم الحموضة يتراوح بين ٩-١١، وكذلك فى وجود المواد المخلبية.

ويتبع فى الإنتاج التجارى لإنزيم البروتييز القلوى طريقة المزارع المغمورة، حيث ينمى الفطر - أو البكتيريا - فى وعاء تخمر تتراوح سعته من ٤٠ إلى ١٠٠ متر مكعب. ويتم التحكم فى الإنتاج عن طريق التحكم فى محتوى البيئة، خاصة محاليل أملاح الأمونيوم، والأحماض الأمينية، وكذلك فى تركيز الأكسوجين.

وبعد إنتاج الإنزيم، يتم تحويله إلى حبيبات قبل استخدامه، خاصة فى مجال صناعة المنظفات الصناعية، نظراً لأن استنشاق هذا الإنزيم يؤدى إلى تفاعلات حساسية. ولذلك يتبع - عادةً - تعبئة الإنزيم فى كبسولات دقيقة **microcapsulation** مع مركب محب للدهون مثل بولى إيثيلين جليكول، وتتم إضافة هذه الكبسولات إلى مسحوق التنظيف.

*** البروتييز المتعادل neutral protease:**

ينتج هذا الإنزيم بواسطة عديدٍ من الفطريات، مثل ***Aspergillus oryzae*** و ***A. sojae*** و ***Pericularia oryzae***.

ويحتاج هذا الإنزيم إلى أيونات الكالسيوم والصوديوم والكلوريد كمثبتات، وذلك لحفظ خصائص الإنزيم الطبيعية والكيميائية. والإنزيم ثابت عند رقم الحموضة المتعادل ودرجة حرارة تتراوح بين ٣٥°م و ٤٥°م.

ويثبط إنزيم البروتييز المتعادل فى وجود البروتييز القاعدى؛ ولذا فإن استخداماته الصناعية محدودة. ومن أهم مجالات استخدام هذا الإنزيم فى التصنيع الغذائى صناعة الخبز وبعض المخبوزات الأخرى، بالإضافة إلى صناعة الجلود.

*** البروتييز الحامضى acid protease:**

يشيع إنتاج هذا الإنزيم بواسطة كثيرٍ من الفطريات؛ وذلك عند رقم حموضة ٢-٤. ويستخدم هذا الإنزيم كبديل لإنزيمات المنفحة **rennin**، وفى هضم بروتينات فول الصويا، وفى صناعة صوص الصويا، وفى تحليل جلوتين القمح المستعمل فى صناعة منتجات الخبز.

ومن هذه الإنزيمات إنزيم **aspergillopeptidase A** الذى ينتجه الفطر ***Aspergillus saitoi***. ويستخدم هذا الإنزيم فى أدوية الهضم؛ حيث يتم إنتاج الفطر للإنزيم عند نموه على بيئةٍ سائلةٍ لمدة ٦٠-٩٦ ساعةً على حرارة ٣٠°م - ٣٥°م، وبعد تمام الإنتاج يتم ترسيب الإنزيم بإضافة كحول الإيثانول.

ويشابه إنزيم **aspergillopeptidase A** إنزيم الببسين؛ حيث إن درجة الحرارة المثلى لنشاطه هى ٣٠°م، عند رقم حموضة ٢,٥-٣.

ويتم الإنتاج التجارى لإنزيم **takadiastase** فى اليابان باستعمال الفطر ***Aspergillus oryzae***؛ وهذا الإنزيم عبارة عن خليطٍ من عدة إنزيماتٍ؛ أهمها إنزيم ألفا أميليز، وإنزيم البروتييز الحامضى. ويستخدم هذا المستحضر التجارى كعاملٍ مساعدٍ للهضم، وفى صناعة منتجات الخبيز.

*** إنزيم الرنين rennin:**

يعتبر هذا الإنزيم من إنزيمات البروتييز الحامضية والذى يطلق عليه اسم مستخلص المنفحة (**rennet**)، ويستخدم هذا الإنزيم أساساً فى صناعة الجبن ذى الخثرة الإنزيمية؛ حيث يعمل الإنزيم على كسر الرابطة بين الفنيل الأنين رقم ١٠٥ والمثيونين رقم ١٠٦ فى سلسلة الكاباكازين؛ مما يسبب ترسيب جسيمات الكازين مكونةً خثرة الجبن.

ولقد كانت الأنفحة (المعدة الرابعة للعجول الرضيعة) هى المصدر الوحيد للحصول على إنزيم الرنين، إلا أن عدم السماح بذبح إناث العجول أدى إلى تناقص كمية الإنزيم المتاحة من مصادرها الطبيعية الحيوانية (المنفحة)؛ لذا لجأ العالم إلى مصدرٍ آخر لهذا الإنزيم، وهو الأحياء الدقيقة.

وكان أول مستحضرٍ فطرّيٍ بديل للمنفحة سُمح بتداوله تجارياً هو ما تم إنتاجه من شركة فايزر الأمريكية عام ١٩٦٧؛ وذلك باستعمال الفطر ***Endothia parasitica***، ثم تلا ذلك استخدام الفطر ***Mucor pusillus*** والفطر ***M. miehei*** لهذا الغرض.

ويتم تنمية الفطر ***E. parasitica*** على بيئةٍ غذائية تتكون من ٣٪ دقيق فول الصويا، و ١٪ جلوكوزاً، ١٪ لبناً فرزاً، ٠,٣٪ نترات صوديوم ، ٠,٠٥٪ فوسفات بوتاسيوم

ثنائية ، ٠,٠٢٥ ٪ كبريتات مغنسيوم؛ وذلك لإنتاج إنزيم الرنين (المنفحة) صناعياً من الفطر.

وتحتاج عملية الإنتاج إلى إنماء الفطر السابق لمدة ٤٨ ساعة فى البيئة الغذائية بعد ضبط رقم حموضتها عند ٦,٨ ، ودرجة حرارة ٢٨°م. وهذا الإنزيم ثابت عند رقم حموضة -,٤ – ٥,٥ .

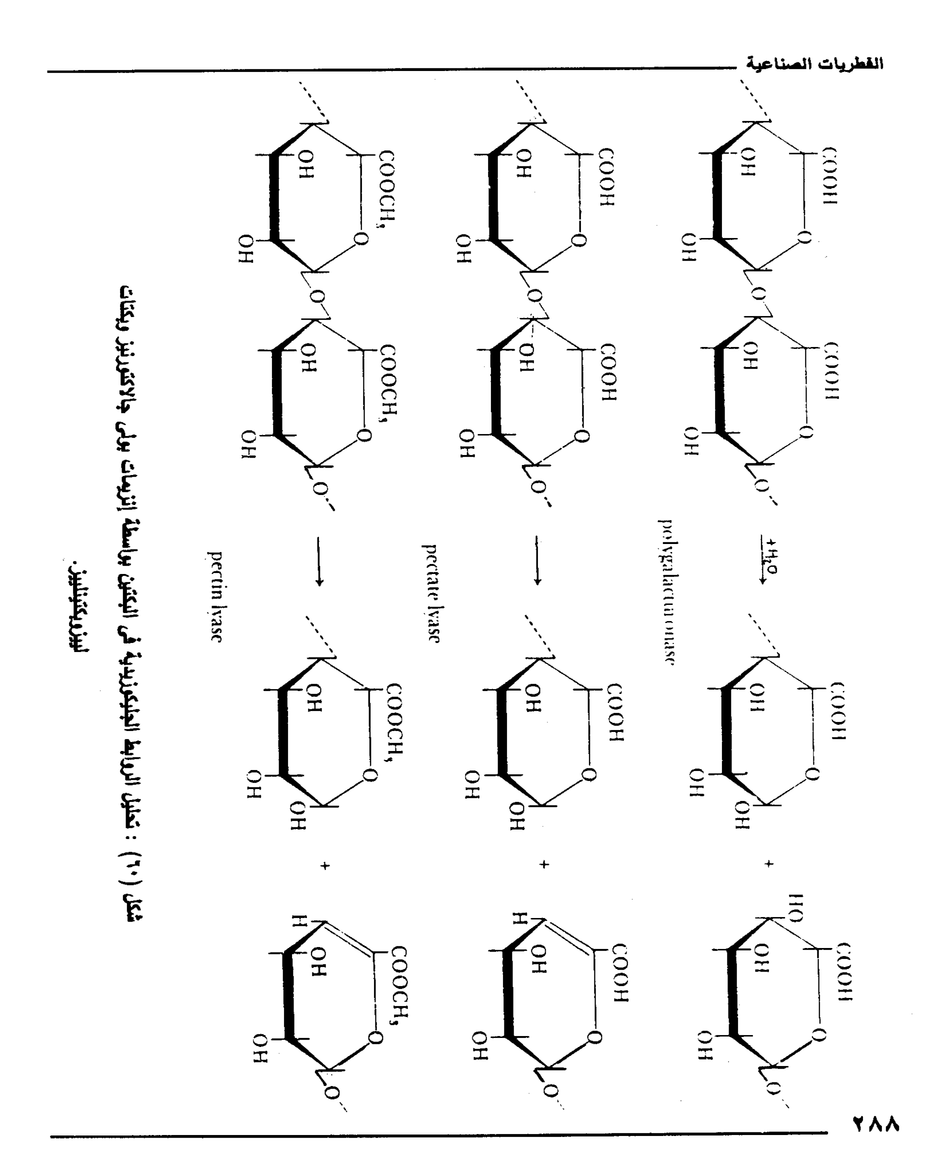
وقد أمكن إنتاج هذا الإنزيم باستعمال الفطر ***M. miehei*** وإنماؤه على بيئة مكونة من ٤ ٪ نشا بطاطس، ٣ ٪ دقيق فول الصويا، ١٠ ٪ حبوب شعير مجروشة ، و٥ ٪ كربونات كالسيوم. ويتم التحضين على حرارة ٤٠°م لمدة ٥-٦- أيام.

ولقد لعبت تقنية الهندسة الوراثية دوراً كبيراً فى تطوير الإنتاج الصناعى لإنزيم الرنين بواسطة الأحياء الدقيقة؛ وذلك عن طريق إكثار الجين المسئول عن إنتاج الإنزيم الأولى **prorennin** فى العجول، ونقله إلى خلايا بكتيريا ***Escherichia coli***؛ حيث تنتج هذه البكتيريا إنزيماً مطابقاً لمنفحة العجول.

وأيضاً تم نقل الجين المسئول عن إنتاج هذا الإنزيم إلى خلايا خميرة ***Kluyveromyces marxianus***؛ حيث أمكن إنتاجه تجارياً بكميات كبيرة وتكاليف منخفضة، وفى فترة قصيرة.

د- إنزيمات تحليل البكتين pectinases:

تضم هذه المجموعة من الإنزيمات ستة أنواع تقوم بمهاجمة جزىء البكتين من عدة جوانب. ويتركب البكتين أساساً من وحدات حمض جالاكتورونيك مرتبطة بعضها ببعض بروابط ألفا ٤,١ . وترتبط مجموعة الكاربوكسيل بنسبة ٩٥ ٪ من هذه الوحدات بكحول الميثانول برابطة أستر، كما هو موضح فى شكل (٦٠).



شكل (٦٠) : تحلل الروابط الجليكوزيدية في البكتين بواسطة إنزيمات بولي جالاكتورنيز وبكتات ليبز وبكتين ليبز.

ويتم تعريف الإنزيمات المحللة للبكتين تبعاً لنقاط تأثيرها على جزىء البكتين؛ فعلى سبيل المثال يقوم إنزيم بكتين إستريز **pectinestrase** بنزع مجاميع الميثيل، ويعمل إنزيما **endo - ploygalacturonase** و **exo - polygalacturonase** على كسر الروابط الجليكوزيدية بين وحدات سلسلة البكتين، بينما يقوم إنزيم **pectinlyase** الفطرى أو إنزيم **pactate lyase** البكتيرى بكسر الروابط الجليكوزيدية بطريقة **transelimination** (شكل ٦١).

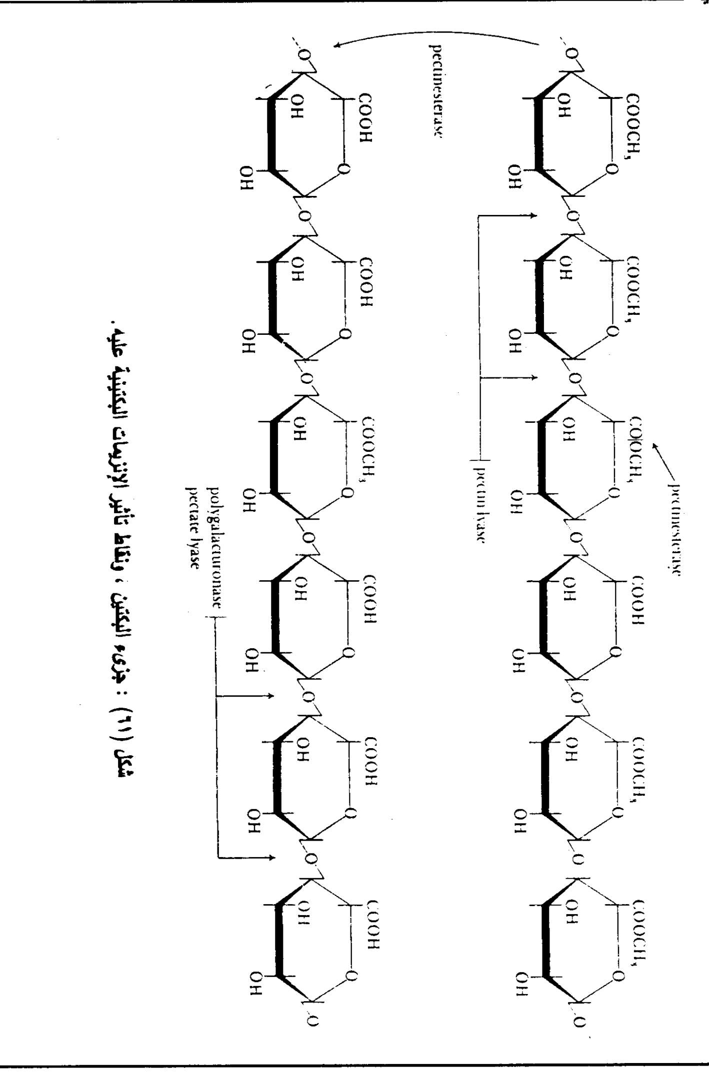
وتهتم عديد من الشركات التجارية بإنتاج الإنزيمات المحللة للبكتين من الفطريات على نطاقٍ واسعٍ؛ مستخدمةً فى ذلك بعض السلالات التابعة للفطريات ***Aspergillus niger*** و ***A. wentii*** وأيضاً بعض الأنواع التابعة للجنس ***Rhizopus***.

ويُتبع فى الإنتاج التجارى لإنزيمات تحليل البكتين إنماء الفطر ***A. niger*** باتباع تقنية التنمية على دفعات **batch culture**؛ وذلك باستعمال بيئةٍ غذائيةٍ تحتوى على ٢٪ سكروزاً، ٢٪ بكتيناً؛ حيث يتم ضبط رقم الحموضة عند ٣–٤ . ويستمر التحضين لمدة ٦٠ – ٨٠ ساعة على درجة حرارة ٣٧ْم.

ويتم الحصول على الإنزيم بعد ذلك بسهولةٍ؛ حيث تتبع طريقة الطرد المركزى للبيئة الغذائية بعد انتهاء فترة التحضين، وقد يتم ترشيحها للتخلص من النموات الفطرية (الكتلة الحيوية للفطر **fungal biomass**)، ثم يتم ترسيب الإنزيم باستعمال مذيباتٍ عضويةٍ، وبعد ذلك يجفف للاستخدام المباشر.

ويتبع حالياً تعبئة هذه الإنزيمات فى كبسولاتٍ دقيقةٍ للاستخدامات التجارية، كما أجريت بعض المحاولات لتسكين الإنزيمات البكتينية أو خلايا الفطريات المنتجة لها، إلا أن ذلك لم يستخدم تجاريًا على نطاقٍ واسعٍ.

وتستخدم مثل هذه الإنزيمات فى ترويق العصائر المحتوية على مواد عالقةٍ؛ مثل عصائر المشمش والخوخ والجوافة وغيرها، وفى تصنيع عجائن العنب، وفى تطرية وإنضاج بعض أنواع الخضر والفاكهة، وفى استخلاص زيت الزيتون.



شكل (٦١) : جزيء البكتين ، ونقاط تأثير الإنزيمات البكتينية عليه.

هـ- إنـزيمات تحليل الدهـون lipases:

هذه الإنزيمات عبارة عن **glycerol ester hydrolase**؛ حيث تعمل على تحليل الدهون إلى جلسريداتٍ أحاديةٍ أو ثنائيةٍ، بالإضافة إلى أحماضٍ دهنيةٍ. وتفرز معظم هذه الإنزيمات خارجيًا بواسطة عديدٍ من الأنواع الفطرية التابعة للأجناس: ***Mucor***، و ***Aspergillus***، و ***Rhizopus***، وأيضاً فطر الخميرة ***Candida***.

ويتم حث إنتاج الإنزيم بواسطة الفطر بإضافة مادةٍ دهنيةٍ أو زيتيةٍ مناسبةٍ فى البيئة الغذائية، إلا أنه فى بعض الأحيان تؤدى إضافة المواد السابقة إلى تثبيط إنتاج الإنزيم، كما هى الحال فى الفطر ***Penicillium roqueforti*** المستعمل في صناعة الجبن الروكفور.كما أن وجود الجليسرول أو الجلوكوز قد يؤدى أيضاً إلى تثبيط إنتاج الإنزيم المحلل للدهون.

شكل (٦٢) : تأثير إنزيم تحليل الدهون lipase على الدهن.

وعلى العكس من ذلك، فإن إضافة أملاح المغنسيوم تعمل على زيادة إنتاج الإنزيم الفطرى؛ حيث تساعد هذه الأملاح على تحرر الإنزيم من على سطح الهيفات الفطرية. وتختلف الحموضة والحرارة المثلى تبعاً لنوع الفطر المستخدم فى الإنتاج التجارى للإنزيمات المحللة للدهون، ولكن درجة الحرارة المناسبة لمعظم هذه الفطريات هى ٣٠°م – ٣٧°م ورقم الحموضة ٥,٥ – ٨,ـ.

وتستخدم الإنزيمات الفطرية المحللة للدهون فى صناعة الأدوية، وخاصة أدوية تعويض ليبيز البنكرياس. كما تستخدم هذه الإنزيمات فى الإسراع من تسوية الجبن

وتحسين طعمه ونكهته، وأيضاً فى صناعة المنظفات الصناعية لتحليل بقايا الزيوت والدهون، وفى صناعة تعديل الدهون الغذائية.

و - انزيمات تحليل السليلوز cellulases:

هى عبارة عن مجموعةٍ من الإنزيمات المحللة للرابطة الجليكوزيدية بيتا ٤،١ فى جزىء السيليلوز. وتضم هذه المجموعة الإنزيمات التالية:

* **إنزيم endocellulase** :

وهو عبارة عن **endo-ß-1,4 glucanase** ويطلق عليه اسم **carboxy methylcel-lulase**، أو **C_x cellulase** .

* **إنزيم exocellulase**:

وهو عبارة عن **exo -ß - 1,4 glucanase** ويطلق عليه اسم **cellobiohydrolase**، أو **avicelase**، أو **C_1 cellulase** .

* **إنزيم cellobiase؟**

وهو عبارة عن **ß- 1,4 glucosidase** .

ومن أكثر الفطريات إنتاجاً لهذه الإنزيمات الفطر ***Trichoderma viridae***، والفطر ***Aspergillus niger***، والفطر ***Chaetomium thermophile***، والفطر ***Sporotrichium pulverulentum***. ومعظم هذه الفطريات تستخدم فى الإنتاج التجارى لهذه الإنزيمات.

ولقد وجد أن أفضل بيئةٍ فى إنتاج مثل هذه الإنزيمات هى البيئة التى تحتوى على مصدر السيليلوز المطلوب تحليله كمصدرٍ وحيدٍ للكربون، بالإضافة إلى مصدرٍ نتروجينى مناسب؛ مثل أملاح الأمونيوم أو اليوريا مع بعض الأملاح المعدنية الضرورية.

وتستخدم هذه الإنزيمات فى إنتاج سكر الجلوكوز من المخلفات السيليلوزية، وفى عزل بروتينات فول الصويا، وفى تعديل بعض الأغذية، وفى إعداد مركزات القهوة، وفى استخلاص مكونات الشاى الأخضر، كما تستخدم - أحياناً - كإضافاتٍ لبعض العلائق الخاصة المستخدمة فى تغذية الحيوانات.

ز- إنزيم أكسدة الجلوكوز glucose oxidase:

هذا الإنزيم عبارة عن **ß- D- glucose : oxygen 1- oxidoreductase**؛ حيث ينتجه الفطر ***Aspergillus niger***. ويعمل هذا الإنزيم على أكسدة الجلوكوز إلى جلوكونو دلتا لاكتون وفوق أكسيد الهيدروجين، ثم يتحول الجلوكونو دلتا لاكتون بعد ذلك إلى حمض الجلوكونيك.

ويعتبر هذا الإنزيم من الإنزيمات الداخلية المتكونة داخل هيفات الفطر؛ لذا يجب تكسير الخلايا للحصول عليه. ورقم الحموضة المناسب لهذا الإنزيم هو ٥,٥ .

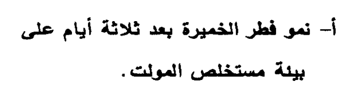
ويستخدم هذا الإنزيم فى الكشف عن الجلوكوز فى البول والدم، كما يستخدم فى تقدير معدلات استهلاك الأكسوجين فى عمليات التخمر الصناعية، بالإضافة إلى استخدامه فى إعداد منتجات البيض والمايونيز للتخلص من الأكسوجين؛ حتى لايؤدى وجوده إلى التلون باللون البنى.

وبالإضافة إلى ماسبق، يستخدم إنزيم أكسدة الجلوكوز فى عديدٍ من التقديرات المعملية بمعامل تحليل الأدوية والأغذية.

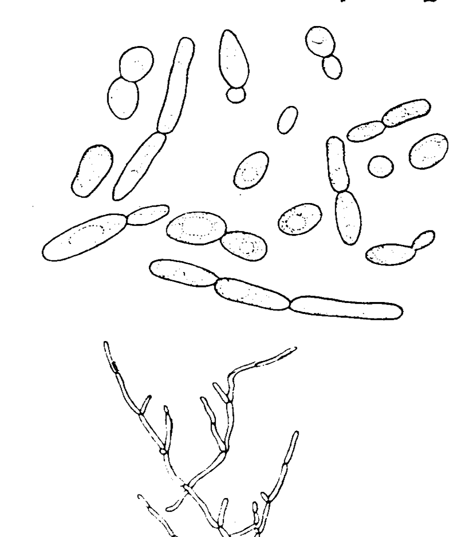
ح- إنزيم تحليل اللاكتوز lactase:

يطلق على هذا الإنزيم أيضاً اسم **ß-glalctosidase**، وهو من الإنزيمات المحللة لسكر اللاكتوز، محولاً إياه إلى جلوكوز وجلكتوز. وينتشر هذا الإنزيم فى جميع الحيوانات الثديية، وكذلك بعض أنواع البكتيريا والفطريات.

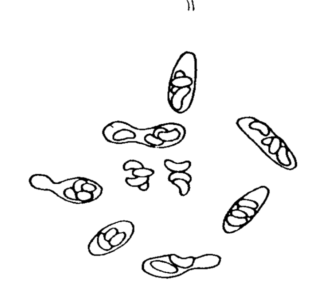
ويتم الإنتاج التجارى لهذا الإنزيم باستخدام الفطر ***Aspergillus niger*** أو فطر الخمير ***Kluyveromyces marxianus***؛ حيث تستخدم فى إنتاجه بيئات غذائية تحتوى على شرش اللبن. ويتم استخلاص الإنزيم بمعاملة الخلايا بالتولوين عند درجة حرارة ٣٧°م فى وجود محلول منظم فوسفاتى عند رقم حموضةٍ متعادلٍ، ووجود أملاح كلوريد المنجنيز وكبريتات المغنسيوم.



أ- نمو فطر الخميرة بعد ثلاثة أيام على بيئة مستخلص المولت.



ب- نمو فطر الخميرة على بيئة آجار دقيق الذرة.



جـ- نمو فطر الخميرة بعد أربعة أيام على بيئة آجار مستخلص الخميرة والمولت.

شكل (٦٣) : فطر الخميرة *Kluyveromyces marxianus* .

ويرسب إنزيم تحليل اللاكتوز بعد إنتاجه بإضافة الأسيتون، ثم يجفف. وقد تتم تنقية الإنزيم بعد ذلك عن طريق أعمدة الفصل الكروماتوجرافى.

ولقد أمكن تسكين هذا الإنزيم على بعض الدعامات فى صورة أعمدةٍ، وإمرار اللبن عليها لتحليل سكر اللبن (اللاكتوز). ويستخدم إنزيم تحليل اللاكتوز فى إعداد منتجاتٍ لبنيةٍ خاليةٍ من سكر اللاكتوز؛ وذلك لتغذية الأفراد ذوى المعدة الحساسة لهذا السكر، أو لمن لا يستطيع الاستفادة من اللاكتوز.

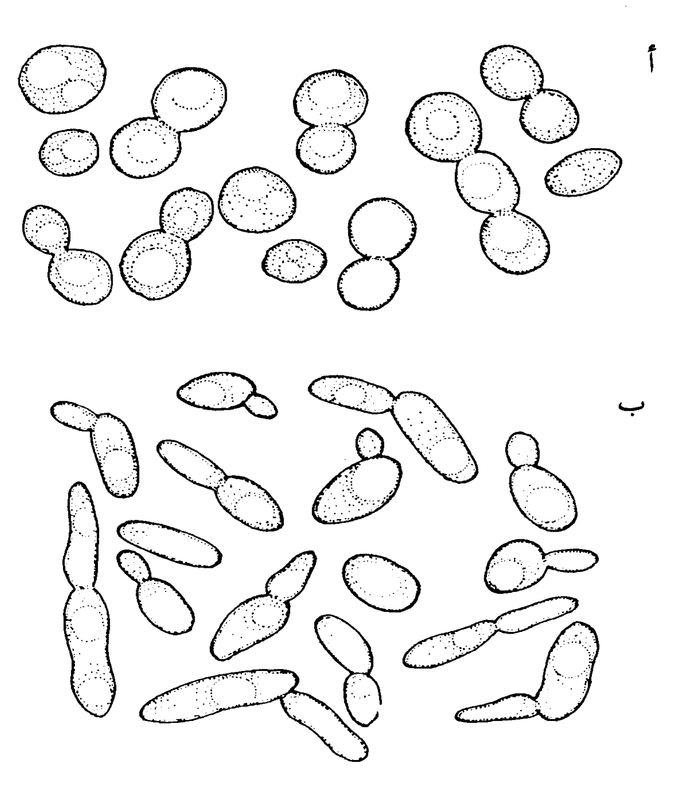
كما يستخدم هذا الإنزيم فى زيادة درجة حلاوة اللبن ومنتجاته، وإنتاج منتجاتٍ لبنيةٍ منخفضة الطاقة (دايت **diet**)، وكذلك لتصنيع بعض المنتجات الغذائية من شرش اللبن.

ط- إنزيم تحليل السكروز invertase :

هذا الإنزيم عبارة عن **ß - D - fructofuranoside : fructohydrolase**؛ حيث تم عزله من خميرة الخباز ***Saccharomyces cerevisiae***؛ وهو يقوم بتحليل السكروز إلى جلوكوز وفركتوز.

ويتميز هذا الإنزيم بأنه قد يتكون داخل خلايا الفطر أو قد يفرز خارجها، ولقد وجد أن صفات الإنزيم الداخلى والخارجى متشابهة فى صفاتٍ معينةٍ ومختلفة فى صفاتٍ أخرى؛ مثال ذلك درجة الثبات.

وينتج هذا الإنزيم تجاريًا باستعمال خميرة الخباز أو خميرة ***S. carlsbergensis***؛ حيث يتم تحميله على مواد حاملةٍ بالادمصاص؛ مثال ذلك مادة البنتونيت **bentonite**، أو الكربون المنشط **activated carbon**. ويستعمل هذا الإنزيم فى إنتاج محاليل الفركتوز الفائقة الحلاوة، وفى إعداد كثيرٍ من الأغذية المحتوية على سكروز؛ ومثال ذلك الحلوى ذات القلب الرخو.



شكل (٦٤) : فطر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*.

نمو الفطر على بيئة أجار مستخلص المولت بعد ثلاثة أيام تحضين.

أ - سلالة (CBS 1171).

ب - سلالة (CBS 1395).

سابعاً : إنتاج الليبيدات والأحماض الدهنية
: Lipids and fatty acids

يطلق على الأحياء الدقيقة المنتجة للزيوت بكميات معنوية مصطلح "oleaginous" (Ratledge, 1989)، ولكن يجب أن يكون محتوى مثل هذه الأحياء الدقيقة حوالى ٢٥ ٪ من الزيت على الأقل حتى يصبح الإنتاج تجارياً.

وتنمى الفطريات المنتجة للزيوت **oleaginous fungi** فى بيئة تحتوى على مصدرٍ كربونيٍ، ولكن يجب أن يؤخذ فى الحسبان توفُّر العناصر الغذائية الأخرى، وخاصةً المركبات النيتروجينية؛ حتى يمكن الحصول على إنتاجٍ عالٍ من الزيوت. ويؤدى استهلاك العناصر الغذائية الموجودة بقلةٍ فى بيئة نمو الفطر إلى تثبيط تخليق البروتينات والأحماض النووية الفطرية، بينما يستمر تخليق الدهون.

ويمكن إجراء عملية التخمر لإنتاج الدهون **Fat-producing fermentation**؛ وذلك بإنماء الفطر المستخدم؛ سواء على دفعاتٍ، أم بإنمائه بطريقةٍ مستمرةٍ **batch or continuous culture**. وتعتبر كفاءة إنتاج الدهون بواسطة الأحياء الدقيقة منخفضةً بصفةٍ عامةٍ؛ حيث تتراوح بين ٢٢ ٪ و ٢٤ ٪؛ وعلى ذلك فإن المحتوى الأمثل للزيت الذى يمكن إنتاجه حوالى ٤٠ ٪.

وهناك مدى عريض من الأحياء الدقيقة المنتجة للزيت، إلا أن هناك أنواعاً محددةً يمكنها إنتاج زيتٍ عالى الجودة وبروتينٍ ميكروبيٍ فى الوقت نفسه؛ مما يعطى هذه الأحياء الدقيقة ميزةً نسبيةً إضافيةً.

ولقد تم تقييم كلٍّ من الفطريات الهيفية **filamentous fungi** والخمائر **yeasts** من ناحية قدرتها على إنتاج الزيوت (جدول٢٠).

جدول (٢٠) : إنتاج الليبيدات من الخمائر (عن Wainwright, 1992)

نوع الخميرة	النسبة المئوية للوزن الجاف	المادة المستخدمة فى النمو
١ ـ خميرة ***Candida guilliermondii***	٣٠	الكانات غير الحلقية
٢ ـ خميرة ***Candida* sp. no. 107**	٤٢	جلوكوز
٣ ـ خميرة ***Cryptococcus terricolus***	٥٥ – ٦٥	جلوكوز
٤ ـ خميرة ***Hansenula ciferrii***	٢٢	مولاس
٥ ـ خميرة ***Lipomyces lipofer***	٤٨	بيت موس محلل مائيا
٦ ـ خميرة ***L. starkeyi***	٣١	لاكتوز
٧ ـ خميرة ***Rhodotorula gracilis***	٤٠	مولاس
٨ ـ خميرة ***R. gracilis***	٦٧	عصير القصب

وتحتوى الليبيدات المستخلصة من خلايا الخميرة على ثلاثى اسيل الجليسرولات **triacylglycerols**، وهو نفس المركب الأساسى فى الزيوت النباتية. ومن أهم الأحماض الدهنية **fatty acids** الموجودة فى الخمائر من ناحية وفرتها حمض الأوليك **oleic**، والبالميتيك **palmitic** ، واللينولينيك **linolenic**، والستياريك **stearic**. وتتشابه هذه الأحماض الدهنية مع تلك الموجودة فى النباتات.

وتتعدد أنواع الفطريات المنتجة للزيوت **oleaginous fungi** فى الفطريات الهيفية، عنها فى الخمائر،كما تنتج هذه الفطريات الهيفية أنواعاً متعددةً من الليبيدات والأحماض الدهنية. وتتميز بعض أنواع فطريات العفن **moulds** بمحتواها من الأحماض الدهنية ذات السلسلة القصيرة **short-chain fatty acids** (يتراوح عدد ذرات

الكربون بها بين ١٢ ذرة كربون و ١٤ ذرة كربون) بنسبةٍ عاليةٍ، بينما هناك أنواع أخرى من هذه الفطريات تحتوى على مستوياتٍ عاليةٍ من الأحماض الدهنية المعقدة غير المشبعة **polyunsaturated acids**.

وتحتوى بعض أنواع الفطريات على زيوتٍ غير مألوفةٍ، تستخدم كمصدرٍ للأحماض الدهنية الأساسية المستخدمة فى نظم إنقاص الوزن **dietary essential fatty acids** فعلى سبيل المثال، يستعمل الفطران ***M. isabellana, Mucor javanicus*** فى إنتاج الأحماض الدهنية المعقدة غير المشبعة ذات الأهمية فى إنقاص الوزن؛ مثل حمض جامالينوليك **linoleic acid** -لا وهو المكوّن الأساسى لزيت نبات زهرة الربيع **evening primrose oil**؛ والذى يوصف لمساعدة النساء التى تعانى آلام ما قبل الطمث **premenstrual tension**.

ولقد أمكن إنتاج هذا الزيت على نطاقٍ واسعٍ باستعمال بيئة دكستروز عجينة البطاطس **potato - paste dextrose** لنمو الفطر المستخدم فى الإنتاج. كما أمكن إنتاج حمض **isosapentaenoic acid** – الذى يوجد بصورةٍ رئيسيةٍ فى زيت السمك – وذلك عن طريق عزله من الفطر ***Mortierella alpina***، حيث ينتج حوالى ٢٠٪ من إجمالى الأحماض الدهنية المنتجة.

ويمكن الاعتماد علي الخمائر كمصدرٍ اقتصاديٍّ للدهون المشابهة لزبدة الكاكاو **cacao butter - like fats**؛ حيث تعتبر زبدة الكاكاو من أغلي الزيوت والدهون المعروفة. ويمكن إنماء الخميرة ***Candida curvata*** علي مخلفات مصانع الأغذية؛ مثال ذلك شرش اللبن **whey**. وعند استخدام سكر اللاكتوز، يتم إنتاج زيت ثلاثي الجلسريد **triglyceride oil**.

وعند تعديل خطوات الإنتاج، يمكن حث هذه الخميرة علي إنتاج كمياتٍ كبيرةٍ من حمض الإستياريك **stearic acid**؛ الذي يستخدم بديلاً لزبدة الكاكاو في إنتاج مستحضرات التجميل **cosmetics** والحلويات **confectionery**.

ولقد أدى انخفاض السعر العالمى لزبدة الكاكاو خلال العقد الأخير – إلى أدنى حَدٍ – إلى عدم الاهتمام بإنتاج حمض الإستياريك بواسطة فطريات الخميرة، إلا أن ارتفاع أسعار زبدة الكاكاو فى المستقبل سوف يجعل إنتاج الأحماض الدهنية بواسطة الخمائر ذا قيمةٍ اقتصاديةٍ عاليةٍ.

وتعتمد فسيولوجيا تخليق الخمائر للدهون أثناء نموها على تراكم هذه المواد الدهنية فى خلايا الخميرة؛ عند نموها فى بيئة غذائيةٍ تحتوى على كميةٍ وفيرةٍ من مصدرٍ كربونىٍّ، مع نقصٍ فى أحد العناصر الهامة؛ مثل الفوسفور، أو الكبريتات، أو الحديد؛ ومن ثم يبدأ تخزين الدهون مع نهاية طور النمو.

وعلى العكس مما سبق، يمكن لبعض الفطريات إنتاج الدهون وتخزينها فى هيفاتها طوال مرحلة النمو، كما هى الحال فى فطر الخميرة ***Cryptococcus terricolus*** والفطر الهيفى ***Rhizopus arrhizus***.

وتحتوى الليبيدات التى تخلقها الفطريات على نحو٧٠٪ – ٨٠٪ جلسريداتٍ ثلاثية، والباقى عبارة عن ستيرولات – مثل الأرجسترول **ergosterol** – وأسترات الستيرولات، بالإضافة إلى ليبيداتٍ قطبيةٍ بنسبة ٥٪ – ٨٪، كما تحتوى هذه الليبيدات على قليل من الجليكوليبيدات **glycolipids** فى بعض الأحيان.

ويتم التحكم فى نوعية الأحماض الدهنية المكونة لليبيد؛ وذلك تبعاً لنوعية مصدر الكربون فى بيئة نمو الفطر، والظروف البيئية. ولكى تقوم الخلية بإنتاج منتجٍ ثابتٍ يجب توفير مكوناتٍ غذائيةٍ ثابتةٍ، وأن يكون نمو الفطر تحت ظروفٍ بيئيةٍ غير متغيرةٍ.

فعلى سبيل المثال، وجد أن نقص الأكسوجين يؤدى إلى نقص تكوين الأحماض الدهنية غير المشبعة فى دهون فطرَىْ الخميرة ***Saccharomyces cerevisiae*** و ***Candida utilis***.

وعلاوة على ذلك، فلقد وجد أن بعض الفطريات يمكنها إنتاج أحماضٍ دهنيةٍ خاصةٍ؛ مثل حمض الإديبيك adipic acid، وحمض الأزيليك azelic acid – وهى من الأحماض الثنائية الكربوكسيل – وذلك من الالكانات؛ كما هى الحال فى فطرَىْ الخميرة *Candida tropicalis* و *C. guilliermondii*.

ثامناً : إنتاج الجبرلينات Gibberellins :

تعتبر الجبرلينات أحد النواتج الثانوية للتمثيل الغذائى للفطريات **fungal secondary metabolites**، كما توجد الجبرلينات كهرمون نباتيّ. وللجبرلينات أهمية بالغة فى التقنيات الحيوية؛ نظراً لصفاتها فى تشجيع النمو.

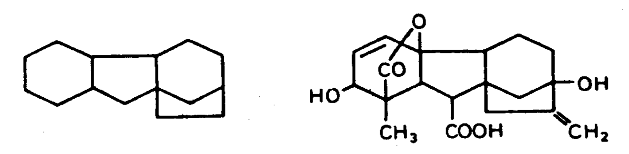
ويمكن عزل الجبرلينات من بذور الفاصوليا غير الناضجة، وأيضاً من بعض أجزاء النبات الأخرى، إلا أنها تنتج – أيضاً – باستعمال الفطر ***Fusarium moniliforme***، وهو أحد الفطريات الناقصة، وطوره الكامل هو الفطر الأسكى ***Gibberella fujikuroi***، ويمكن لهذا الفطر إنتاج المضاد الحيوى **bikaverin** بالإضافة إلى إنتاجه للجبرلينات.

١- إنتاج الجبرلين وحمض الجبرليك:

يعتبر الفطر السابق أحد الفطريات الممرضة للنبات؛ حيث يصيب بادرات الأرز؛ مسبباً لها أعراضاً مميزةً؛ حيث تستطيل السلاميات، ثم يموت النبات خلال مراحل نموه الأولى. وتتميز بعض سلالات الفطر ***F. moniliforme*** بإنتاجها للجبرلين **gibberellin**، والذى يطلق عليه حمض الجبرليك **gibberellic acid**، أو جبرلين أ٣ **gibberellin A_3**. وتنتج النباتات خمسة أنواعٍ فقط من الجبرلينات، بينما تنتج الفطريات حوالى أربعين نوعاً أخرى منه.

ونظراً لقدرة الجبرلين على زيادة إنتاج إنزيم الأميلاز **amylase**، فإنه يستخدم أحياناً خلال مرحلة إنبات حبوب الشعير فى صناعة المولت **malting**. ويتم الحصول على حمض الجبرليك عن طريق إنماء الفطر ***F. moniliforme*** على مادةٍ تحتوى على

مخلوطٍ من المواد الكربوهيدراتية وقليلٍ من المواد النتيروجينية، ويمكن إضافة الجليسرول **glycerol** لزيادة إنتاج حمض الجبرليك.



شكل (٦٥) : تركيب الجبريلان وحمض الجبرليك.

وتمر عملية إنتاج الجبرلينات بالمراحل الآتية:

١- الطور اللاجى.

٢- طور النمو، ويستمر نحو ٢٤- ٣٦ ساعة؛ دون تحديد لمصدر النيتروجين، ويكون إنتاج الجبربلينات أثناء هذا الطور منخفضاً.

٣- مرحلة تحديد كمية الجليسين: وفيها ينخفض معدل نمو الفطر، ويكون إنتاج الجبرلين بطيئاً.

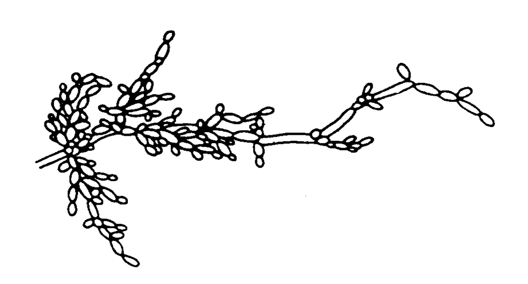
٤- مرحلة غياب الجليسين: وفيها يحدث هدم للجلوكوز، ويزيد إنتاج الجبرلين.

٥- مرحلة تركيز الجلوكوز صفر: وفيها يقل تراكم الجبرلين.

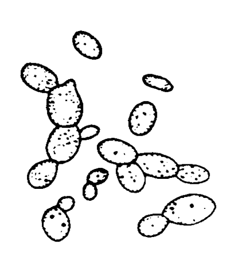
٦- مرحلة تحلل الخلايا وزيادة رقم الحموضة.

ولذلك فإن تركيز النتروجين (أقل من ٢,٠٪) ووجود عدة مصادر للكربون فى البيئة من أهم العوامل المحددة لإنتاج الجبرلين.

وتصل إنتاجية الجبرلين إلى ١-٢جم/ لتر بعد ١٢٠-١٥٠ ساعة تحضين على ٢٥°م.

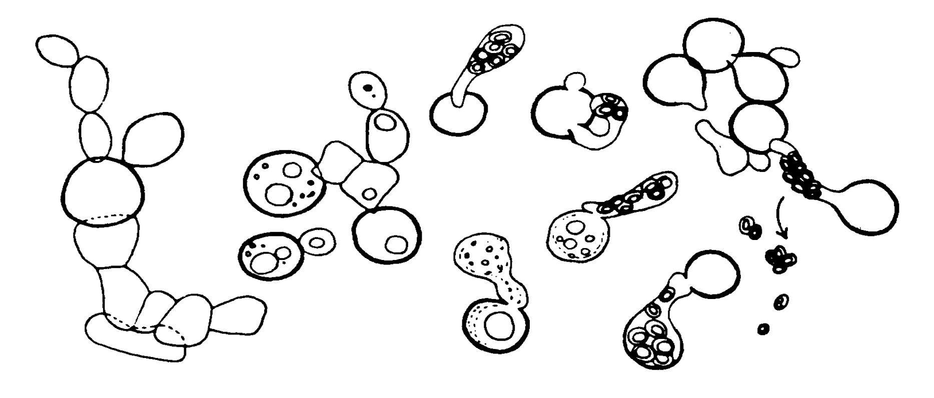


نمو الفطر على بيئة آجار دقيق الذرة



نمو الفطر على بيئة الجلوكوز
ومستخلص الخميرة والببتون

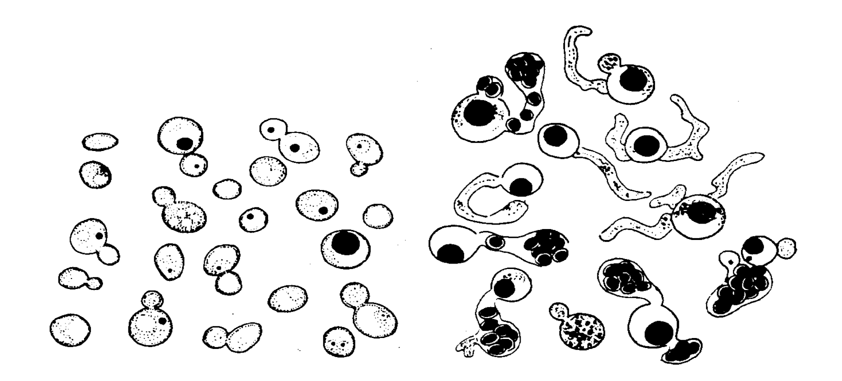
شكل (٦٦) : فطر الخميرة *Candida guilliermondii*.



نمو الفطر على بيئة آجار ايثانول شتاركى
(starkeys - ethanol agar)

نمو الفطر فى بيئية آجار مستخلص الخميرة
والمولت (YM- agar) السائلة

شكل (٦٧) : فطر الخميرة *Lipomyces lipofer*.



نمو الفطر على بيئة آجار إيثانول شتاركى (starkeys - ethanol agar)   نمو الفطر فى بيئة مستخلص المولت السائلة

شكل (٦٨) : فطر الخميرة *Lipomyces starkeyi*.

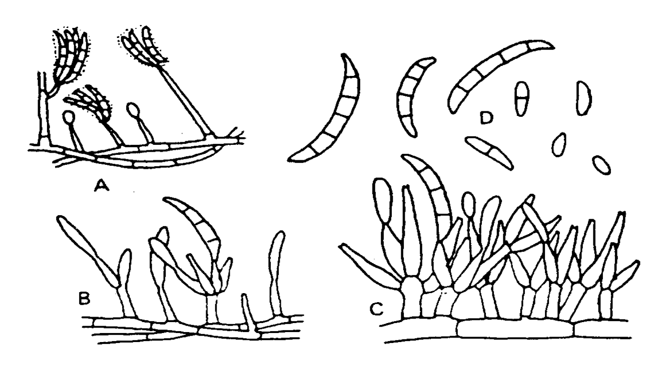
٢- إنتاج الزيرالينون zearalenone :

الزيرالينون ومشتقاته من المركبات التى لها نشاط هرمونى استروجينى **estrogenic activity** . ويوضح شكل (٦٩) التركيب العام لهذا المركب. ويستخدم الزيرالينون فى زيادة نمو الأغنام وغيرها من حيوانات المزرعة **anabolic growth stimulator**.

وينتج هذا المركب بواسطة الفطر *Gibberella zea*؛ وهو الطور الكامل لفطر *Fusarium roseum graminearum* وتتم مراحل الإنتاج بواسطة التنمية فى مزارع مغمورة فى أوعية حجمها ٨٠ متراً مكعباً، وتصل الإنتاجية إلى ٣٠ جراماً/لتر بعد فترة تحضين ٢١ يوماً على درجة ٣٢°م.

	R_1	R_2	R_3	R_4
Zearalenone	H_2	H_2	=O	H
Zearalenol	H_2	H_2	OH	H
6',8'-Dihydroxyzearalene	OH	H_2	OH	H
8'-Hydroxyzearalenone	OH	H_2	=O	H
7'-Dehydrozearalenone	H	H	=O	H
5-Formylzearalenone	H_2	H_2	=O	CHO

شكل (٦٩) : تركيب الزيرالينون zeralenone ومشتقاته.



شكل (٧٠) : الفطر *Fusarium roseum graminearum*.

A – هيفات تحمل حوامل كونيدية.

B – حوامل كونيدية مختلفة.

C – وسادة جرثومية sporodochium تتكون من حوامل كونيدية متفرعة.

D– كونيديات صغيرة وكبيرة.

تاسعا: إنتاج الفيتامينات Vitamins :

استخدمت فطريات الخمائر منذ سنوات مضت كمصدر للفيتامينات الغذائية الخام crude dietary vitamins؛ وذلك تحت أسماء تجارية؛ مثال ذلك: مارميت Marmite في المملكة المتحدة، وفيجيميت Vegemite في أستراليا.

ولقد أمكن إنتاج فيتامينات أخرى بصورة تجارية من الخمائر، وأيضاً كنواتج ثانوية من التخمر (جدول ٢١).فعلى سبيل المثال، تنتج الخميرة *Pichia guilliermondi* الريبوفلافين riboflavin عند إنمائهاعلى الهيدروكاربونات الأليفاتية aliphatic hy-drocarbons.

جدول (٢١) : الفيتامينات المنتجة من فطريات الخمائر.
(عن Wainwright,1992)

اسم الخميرة	الفيتامين المنتج	الإنتاج (مللجم/ لتر)
١ ـ الخميرة *Ashbya gossypii*	ريبوفلافين	٦٤٢٠
٢ ـ الخميرة *Candida flareri*	ريبوفلافين	٥٦٧
٣ ـ الخميرة *Eremothecium ashbyii*	ريبوفلافين	٢٤٨٠
٤ ـ الخميرة *Pichia guilliermondii*	ريبوفلافين	لم تقدر
٥ ـ الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*	أرجسترول	٣٠٠٠
٦ ـ الخميرة. *Rhodotorula sp*	كاروتين	لم تقدر

١-إنتاج الريبوفلافين Riboflavin :

هناك ثلاث تقنياتٍ مختلفةٍ تتبع لإنتاج الريبوفلافين، الأولى عن طريق التخليق الكيميائى – وهى تمثل نحو ٢٠٪ من الإنتاج العالمى ـ ويستخدم الريبوفلافين الناتج فى إنتاج الأدوية.والثانية عن طريق التحول الحيوى **biotransformation**؛ حيث يتم تحويل الريبوز بطريقةٍ كيميائيةٍ إلى ريبوفلافين، وتمثل هذه الطريقة حوالى ٥٠٪ من الإنتاج العالمى.

وتعتمد التقنية الثالثة فى إنتاج الريبوفلافين على فطريات الخميرة بطريقةٍ مباشرةٍ؛ وهى تمثل نحو ٣٠٪ من جملة الإنتاج العالمى الذى يصل إلى ٢٠٠٠ طنٍّ سنوياً، ومن أكثر فطريات الخميرة استخداماً فى الإنتاج التجارى للريبوفلافين ***Ashbya gossypii*** والتى يصل إنتاجها إلى ١٠ جراماتٍ – ١٥ جرام لكل لتر بيئة.

وتستخدم لتنمية هذه الخميرة بيئة تحتوى على سكر الجلوكوز؛ حيث يضاف إلى السائل المتخلف عن صناعة نشا الذرة **corn-steep liquor**. وقد تستخدم الليبيدات – أحياناً – كمصدرٍ للطاقة.

وعلى ذلك، فإن البيئة المستخدمة فى الإنتاج التجارى للريبوفلافين تتركب من ٢,٢٥ ٪مخلف صناعة نشا الذرة، ٣,٥٪ ببتون، ٤,٥٪ زيت فول الصويا. وقد يضاف ببتون أو جليسين أو مستخلص خميرة أثناء نمو الفطر؛ وذلك للمساعدة على زيادة الإنتاج. وفى بعض الحالات قد يضاف جلوكوز أو أينوزيتول.

وتستخدم مزرعة نشطة من فطر الخميرة ***Ashbya gossypii*** عمرها ٢٤–٤٨ ساعة؛ كمادة لقاحٍ أوليٍّ (بادىء)؛ حيث يستعمل هذا اللقاح بمعدل ٠,٧٥ – ٢٪، ثم يتم التحصين تحت ظروفٍ هوائيةٍ على حرارة ٢٨°م لمدة سبعة أيام.

ويتكون الريبوفلافين فى البيئة السائلة التى ينمو فيها فطر الخميرة، وأيضاً داخل الخلايا الفطرية. وللحصول على الفيتامين المتكون داخل خلايا الفطر، تتم معاملة الخلايا حرارياً على ١٢٠°م لمدة ساعة،وبعد ذلك تستبعد خلايا الفطر بالترشيح، ثم ينقى الريبوفلافين.

شكل (٧١) : التخليق الحيوى للريبوفلافين.

GTP, Guanosine triphosphate; PRP, 2.5- Diamino-6- keto-4- (5'- phosphoribosylamino)- pyrimidine; ADRAP, 5-Amino- 2.5-dioxy-4- (5'-phosphoribitylamino)- pyrimiidine; MERL, 6-Methly-7- (1'.2'- dihydroxyethyl) -8- ribityllumazine; DMRL, 6, 7-Dimethyl -8- ribityllumazine.

ويمكن إنتاج الريبوفلافين بتنمية الفطريات على الهيدروكربونات كمصدرٍللكربون؛ حيث يستخدم لذلك أحد نوعى فطر الخميرة ***Pichia miso*** أو ***P. guillieromondii***. كما يمكن إنتاج هذا الفيتامين – أيضاً – بتنمية الفطر ***Hansenula polymorpha*** على الميثانول، وكذلك بتنمية فطر الخميرة ***Saccharomyces*** على الخلات كمصدرٍ وحيدٍ للكربون.

٢– إنتاج الكاروتينويدات Carotenoides :

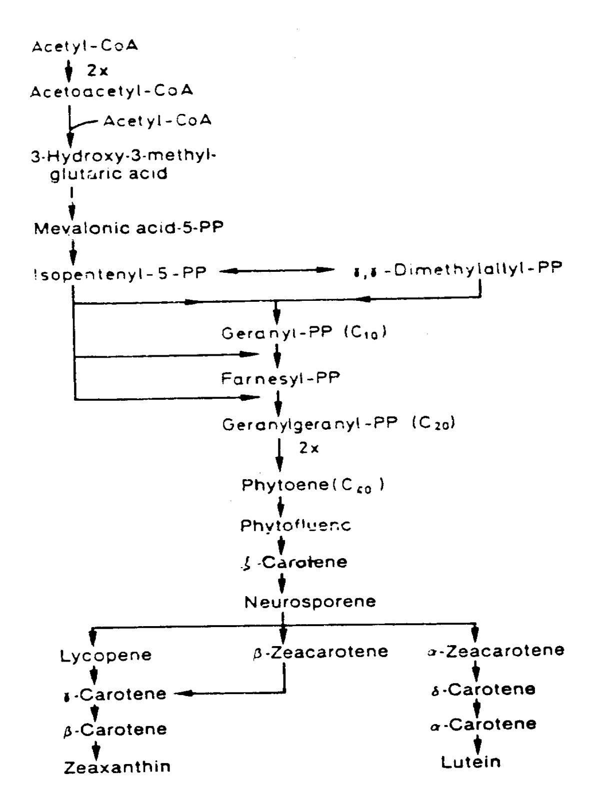
تستخدم فطريات الخمائر – أيضاً– على نطاقٍ تجاريٍّ واسع فى إنتاج الكاروتين **carotene**، والأرجسترول **ergosterol**، وأيضاً فى إنتاج المواد المكونة لفيتامينىْ أ ، د **(precursors of vitamins A,D)**.

وكذلك الحال فى فطر الخميرة ***Saccharomyces cerevisiae*** ، فإنه يمكن حثها على إنتاج أكثر من ١٠ ٪ من الوزن الجاف لخلاياها من مادة الأرجسترول.

وتستخدم الكاروتينويدات فى تلوين الأغذية؛ مثل المارجرين، والجبن، ومنتجات البيض واللحوم، ويبلغ الاحتياج العالمى للبيتا كاروتين – على سبيل المثال – إلى نحو ١٠٠ طنٍ سنوياً؛ حيث تستخدم كألوانٍ غذائية. ويوضح شكل (٧٢) مراحل تخليق الكاروتينويدات التى يمكن إنتاجها بواسطة التخمرات، وقد تم الحصول على الإنتاجية القصوى لهذه المركبات بواسطة الفطر ***Blakeslea trispora*** ، وقد وجد أن إنتاج الكاروتينويدات يحدث اثناء تكوين الجراثيم الزيجية.

ويتم استبداء الانتاج فى وجود أحماض التراى سبوريك **trisporic acids** (شكل٧٤) فى وجود السلالتين الموجبة والسالبة. ولا يعتبر حمض التراى سبوريك قاعدة للبيتاكاروتين، لكنه يعمل كرمون جنسىّ (**gamones** (+))؛ ولذلك يتم الإنتاج بالتخمر العميق فى وجود السلالتين (–) و (+) اللتين يجب أن تكونا متساويتين فى العدد. وتقوم السلالة (–) بإنتاج البيتاكاروتين. ونتيجة للثبات المنخفض

للبيتاكاروتين تضاف مواد مضادة للأكسدة أثناء التخمر، يتم بعد ذلك استخلاص البيتاكاروتين من النمو الفطرى (الكتلة الحيوية biomass) باستخدام الميثانول أو كلوريد الميثيلين، ثم تستكمل التنقية بعد ذلك.



شكل (٧٢) التخليق الحيوى للكاروتينويدات **Carotenoides**

α-Carotene

β-Carotene

γ-Carotene

Lycopene

HO Zeaxanthin OH

شكل (٧٢) : تركيب بعض الكاروتينويدات التى يمكن انتاجها بواسطة التخمرات.

H_3C COOH CH_3 CH_3 OH CH_3 O

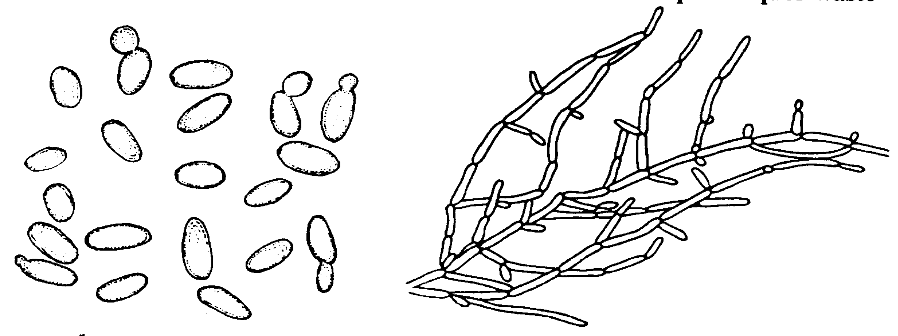
شكل (٧٤) : تركيب حمض تراى سبوريك Trisporic acid .

عاشراً : إنتاج الأحماض الأمينية Amino acids

يتزايد استخدام الأحياء الدقيقة فى إنتاج الأحماض الأمينية عن طريق التخمر. وتعتبر السلالات التابعة لفطر الخميرة *Rhodotorula* أكثرها فاعلية فى هذا الغرض.

وهناك عديد من الأغذية – وخاصة تلك المصّنعة من حبوب النجيليات– تكون فقيرة فى محتواها من الحمض الأمينى ليسين **L. lysine**؛ لذا فإنه من المرغوب فيه البحث عن بديلٍ رخيص الثمن لإنتاج هذا الحمض الأمينى وغيره من الأحماض الأمينية الأخرى.

ويمكن استخدام حمض **2 - formyl - 2 - ketovaleric acid** كمادةٍ لإنماء فطر الخميرة ***Saccharomyces cerevisiae***، حيث ينتج عن النمو خلايا تحتوى على حوالى ٢٠٪ من الحمض الأمينى ليسين ، كما يمكن الحصول على هذا الحمض عن طريق إنماء فطر الخميرة ***Torulopsis utilis*** على محلول مخلفات صناعة الورق **sulphite liquor waste**.



نمو الفطر على بيئة أجار دقيق الذرة. نمو الفطر فى بيئة مستخلص المولت السائلة

شكل (٧٥) : فطر الخميرة *Torulopsis utilis*.

وينتج التربتوفان **tryptophan** بواسطة سلالةٍ من فطر الخميرة قريبةٍ للغاية من الفطر ***Candida tenuis*** والفطر ***C. parapsilosis***. بالإضافة إلى بعض سلالات الجنس ***Hansenula*** التى يمكنها إنتــاج التربتوفان عند إنمائها على مولاس بنجر السكر كبيئة للنمو، واستعمال حمض الانثرانيليك **anthranilic acid** كبيئة بادئة للتفاعل **pre-cursor**. وهناك فطريات أخرى تنتج هذا الحمض الأمينى؛ مثل : فطر ***Torulopsis utilis***، وفطر ***Fusarium roseum***.

حادى عشر: إنتاج المحفزات الفطرية Fungal elicitors :

تعتبر المحفزات الفطرية مزارع لفطرياتٍ أو أحد مشتقاتها؛ مثال ذلك مكونات الجدر الخلوية **cell wall components** التى تعمل على حث مزارع الأنسجة النباتية على إنتاج بعض مواد التمثيل الغذائي.

وتستطيع الفطريات تكوين مركباتٍ جديدةٍ من خلايا النبات؛ حيث تستعمل – بصفةٍ عامةٍ – فى زيادة معدل تكوينها. ولقد زاد الاهتمام بذلك التأثير المشجع للفطريات على إنتاج الفيتوالكسينات **phytoalexins** فى خلايا النبات. وتنتج مثل هذه المركبات بواسطة النباتات النامية؛ حيث تعمل على مقاومة العدوى الفطرية؛ ولذلك فهى تناظر نظام المناعة فى الحيوانات، ولكنها أقل تعقيداً إلى حدٍّ كبيرٍ. ويمكن استخدام الفيتوالكسينات كمبيداتٍ فطريةٍ طبيعيةٍ **natural fungicides**.

وهناك مدى واسع من المواد الكيموحيوية – بخلاف الفيتوالكسينات – تنتج بواسطة خلايا النبات فى وجود الفطر. وبعض هذه المركبات الكيميائية ذات استخداماتٍ مباشرةٍ قليلةٍ، ولكن يهتم بها كإحدى وسائل البحث العلمى. ومن الأمثلة الممتازة لمثل هذه المركبات المشجعة مركب **canthin - 6 - one**؛ وهو قلويد **alkaloid** ينتج بواسطة نبات ***Ailanthus altissima***.

وتُنتج مزرعة الأنسجة من هذا النبات كمياتٍ بسيطة من مشتقات مادة **cathin 6-one**. ويمكن حث الإنتاج عن طريق إضافة خلايا الخميرة ومستحضرات جدر خلايا الأنواع المختلفة من الفطر ***Phytophthora***. وترجع أهمية مركب **can-thin 6-one** إلى قدرته على تضاد النمو البكتيرى والنمو الفطرى، وأيضاً

مقاومتـه للتسمم الخلوى **cytotoxic activity**. وهناك مواد أخرى ناتجة عن التمثيل الغذائى للنبات يمكن تشجيع إنتاجها عن طريق الفطريات؛ مثال ذلك **monoterpene indole alkaloides**.

ثانى عشر : إنتاج اللقاحات الفطرية القاتلة للحشرات:

يصل عدد الفطريات المعروفة التى تصيب الحشرات نحو ٤٠٠ فطرٍ؛ حيث تتخصص معظم هذه الفطريات الممرضة للحشرات **mycoentomopathogens** فى إصابة عوائلها الحشرية.

وتستخدم بعض هذه الفطريات بنجاحٍ منذ فترةٍ ليست بالقصيرة فى المكافحة الحيوية للحشرات، ولكن كفاءة اللقاح الفطرى فى تأثيره على الحشرات إنما تتحدد فى كمية اللقاح الفعال، ووقت الاستخدام، والظروف السائدة.

ويشترط فى الفطر المراد استخدامه فى المكافحة الحيوية للحشرات إمكانية إنتاج وحداته الممرضة بكمياتٍ كبيرةٍ وبسعرٍ اقتصاديٍّ، وأن تكون المستحضرات التجارية منه ثابتةً وفعالةً، وقابلةً للتخزين لفتراتٍ طويلةٍ نسبيًّا. كما يجب أن يكون ذلك اللقاح الفطرى ممرضاً للعائل الحشرى المراد مكافحته بصورةٍ جيدةٍ ولفترةٍ كافيةٍ.

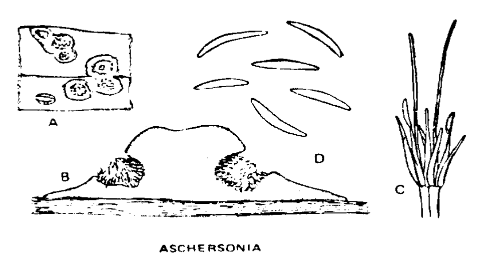
ويتم إنتاج اللقاحات الفطرية المستخدمة فى المكافحة الحيوية للحشرات - عادةً - على بيئةٍ صلبةٍ أو سائلةٍ، وقد يتطلب الأمر تنمية هذه الفطريات أولاً على بيئةٍ سائلةٍ لتكوين اللقاح الأولى، ثم استعمال هذا اللقاح - بعد ذلك - لزراعة الفطر على مسطحاتٍ من بيئاتٍ صلبةٍ لإنتاج جراثيم الفطر.

ويستعمل - عادةً - الآجار فى تجهيز البيئات الصلبة التى ينمو عليها الفطر، إلا أن ذلك يكون مكلفاً فى حالة الإنتاج التجارى؛ لذلك تستخدم حبوب بعض النباتات النجيلية - وأحياناً بعض المخلفات العضوية الرخيصة الثمن - فى إنتاج لقاحات هذه الفطريات الممرضة للحشرات.

ويعيب استخدام هذه المخلفات العضوية فى إنماء الفطريات السابقة، بطء نمو هذه الفطريات عليها؛ مما يجعل الوقت اللازم لإنتاج مثل هذه اللقاحات الفطرية طويلاً نسبياً . كما تتعرض هذه المخلفات العضوية للتلوث بعديد من الأحياء الدقيقة الأخرى؛ مما يؤثر فى إنتاج لقاح الفطريات الممرضة للحشرات كماً ونوعاً.

جدول (٢٢) : أهم الفطريات المستخدمة فى المكافحة الحيوية للحشرات.
(عن Crueger & Crueger, 1990)

الفطر	طريقة التنمية	الوضع الإنتاجى	الدولة المنتجة
Aschersonia sp.	مزرعة مغمورة	نصف صناعى	انجلترا، هولندا، روسيا
Beauveria bassiana	مزرعة مغمورة - بيئة نصف صلبة	مسموح بتداوله تجارياً	روسيا
Conidiobolus obscurus	مزرعة مغمورة	تحت التجارب	الولايات المتحدة
		نصف صناعى	إنجلترا، فرنسا،
Culcinomyces clavosporus	مزرعة مغمورة		الولايات المتحدة
Entomophthora grylli	فى الحشرات	تحت التجارب	استراليا
Erynia neoaphidis	مزرعة مغمورة وفى الحشرات	تحت التجارب	الولايات المتحدة
		تحت التجارب	إنجلترا
Hirsutella thompsonii	نصف صلب	نصف صناعى	الولايات المتحدة
Lagenidium giganteum	مزرعة مغمورة	تحت التجارب	الولايات المتحدة
Metarhizium anisopliae	نصف صلبة	مسموح بتداوله تجارياً	البرازيل
Nomurea rileyi	مزرعة صلبة	تحت التجارب	الولايات المتحدة
Verticillium lecanii	مزرعة مغمورة	مسموح بتداوله تجارياً	إنجلترا
Zoophthora radicans	مزرعة مغمورة	تحت التجارب المعملية	الولايات المتحدة



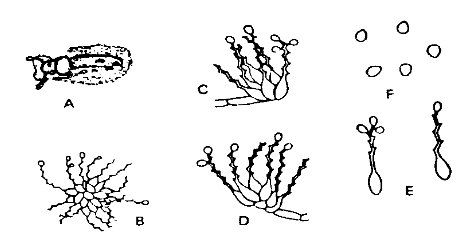
شكل (٧٦) : الفطر *Aschersonia aleyrodis*

A= حشيات ثمرية **stromata** تغطى جليد الحشرة.

B = قطاع خلال حشية ثمرية والبكنيديات.

C = حوامل كونيدية.

D= كونيديات.





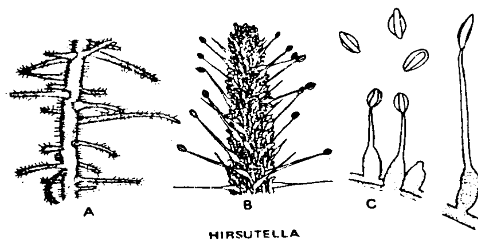
شكل (٧٧) : الفطر *Beauveria bassiana*

A= حشرة خنفساء مصابة بالفطر.

B,C,D = تجمعات من الحوامل الكونيدية.

E = حامل كونيدى مفرد.

F= كونيدة.





شكل (٧٨) : الفطر *Hirsutella saussurei* الممرض للحشرات.

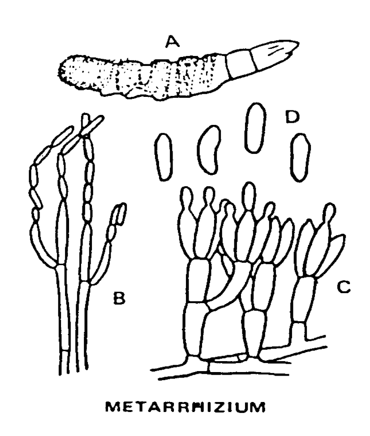
A, B= أجزاء من الضفائر الكونيدية **syn-nemata**

C = قارورات **phialides** وكونيديات.

ولقد نشطت البحوث العلمية فى محاولاتٍ جادةٍ لحل المشكلات الناجمة عن استخدام الفطريات فى مكافحة الحشرات حيويًا، والتغلب على عيوب هذه المستحضرات الفطرية التجارية.

ومن المجالات الهامة التى تتناولها مثل هذه البحوث بالدراسة، زيادة ثبات الوحدات الفطرية الممرضة للحشرات، وبقاؤها لفترةٍ أطول محتفظة بحيويتها، وزيادة معدل إنبات الجراثيم بإضافة مواد مشجعةٍ للإنبات، وعدم حدوث أية تأثيراتٍ ضارة من هذه اللقاحات للنبات أو الحيوانات.

كما تفتح التقنيات الحديثة – المتبعة لتعديل صفات الفطريات الممرضة للحشـرات – آفاقاً جديدةً لإنتاج سلالاتٍ معدلةٍ وراثيًا من هذه الفطريات، قادرةٍ على الفتك بالآفات الهامة الضارة بالإنتاج الزراعى؛ مثل: المن، والتربس، والذباب الأبيض، والحلم، وغيرها، بتكاليف محدودةٍ وبتلوثٍ أقل للبيئة.



شكل (٧٩) : الفطر *Metarrhizium anisoplae* الممرض للحشرات .

A – الفطر متجرثم على يرقة ميتة .

B,C – حوامل كونيدية تحمل كونيديات فى سلاسل.

O – كونيديات.



الباب التاسع

إنتاج الغذاء بواسطة الفطريات

إنتاج الغذاء بواسطة الفطريات

مقدمة :

يعتبر استخدام الفطريات فى التصنيع الغذائى من أقدم الاستخدامات التى طوّع فيها الإنسان الكائنات الحية الدقيقة لخدمته، منذ أن عرف كيف يصنع رغيفاً من الخبز وقدحاً من الجعة.

والخبز من أقدم الأطعمة التى صنعها الإنسان، ولعله الطعام الوحيد المشترك بين شعوب العالم القديم حتى يومنا هذا ونحن على أعتاب القرن الحادى والعشرين. ولقد عثر العلماء على آثار خبزٍ مصنوعٍ من دقيقٍ خشنٍ فى سويسرا ترجع إلى العصر الحجرى؛ حيث كان الإنسان البدائى يجمع حبوب القمح - وغيرها من الحبوب الأخرى - ويفتتها، ثم يصنع منها خبزاً.

ولقد وُجدَت داخل أهرامات الجيزة أكوام من الخبز الجيد التخمير، صنعت من دقيق الذرة الرفيعة. وهذا الخبز مستدير ومحدب؛ مما يدل على أنه تم خبزه على حجارة محدبةِ الشكل بعد تخميره. وكذلك وُجِدت أنواع من الفطير غير المتخمر؛ وذلك قبل ميلاد السيد المسيح بنحو ثلاثة آلاف سنة.

ويقول المؤرخ اليونانى هيرودوت **Herodotus** - المعروف بأبى التاريخ - أن المصريين القدماء نبغوا فى صناعة الخبز نبوغاً تامّاً ، ووصلوا بهذه الصناعة إلى أبعد حدود

الإتقان. وكان المصريون القدماء يصنعون الخبز من القمح أو الشعير أو الذرة الرفيعة، وعادةً من مخلوط هذه الحبوب، أما الخبز الأبيض المصنوع من دقيق القمح الخالص، فكان طعام الأغنياء فقط.

وتظهر على الآثار الفرعونية نقوش لأرغفةٍ من الخبز المستدير، تتناثر على سطحها بذور صغيرة تشبه السمسم الذى نستعمله نحن حالياً فى صناعة الخبز الأفرنجى.

ومنذ ذلك الحين احتل الخبز مركزاً رئيسيّاً فى طعامنا اليومى. وإذا ألقينا نظرةً على قائمة الأطعمة التى كانوا يضعونها مع الميت فى ذلك العهد الفرعونى القديم، وجدنا أن القائمة تضم نحو خمسة عشر نوعاً من أنواع الخبز المختلفة، ازدادت إلى نحو أربعين نوعاً فى الدولة الفرعونية الحديثة.

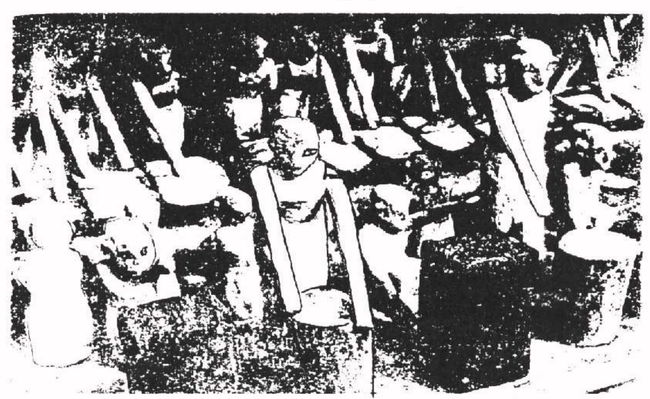
ويمكن تتبع مراحل صناعة الخبز من النقوش البارزة على مصاطب قدماء المصريين، فنجد أنه يتم سحق الحبوب فى هاون، ويأخذ الطحان مجروش الحبوب (الدشيش)، فيطحنه على حجرٍ كبيرٍ وينخله، ثم تُحْمَى أطباق من الفخار فى النار، وتوضع فيها العجينة المصنوعة من الدقيق واللبن، وقد يضاف إليها العسل والزبد والبيض، بالإضافة إلى كُرَةٍ من عجينٍ قديمٍ تستعمل كبادىءٍ للتخمر.

وعلى الرغم من قدم صناعة الخبز - والتى تضرب بجذورها فى عمق التاريخ الإنسانى - إلا أن الإنسان لم يفطن إلى دور فطريات الخميرة فى هذه الصناعة الحيوية إلا من أمدٍ قريبٍ.

ولقد صاحب إنتاج الخبز فى الحضارات الإنسانية القديمة إنتاج الجعة (البيرة)؛ حيث كانت المشروب الشعبى لقدماء المصريين، وكانوا يطلقون عليها اسم «الخبز السائل». وصنعت الجعة المصرية - فى ذلك الوقت - من الشعير والقمح والبلح، وكانت أدوات صناعتها تتكون من قوالب تشبه تلك المستخدمة فى صناعة الخبز.



شكل (٨٠) : نموذج مصنوع من الحجر الجيرى الملون لقزم يصنع الجعة (البيرة) ، يرجع هذا النموذج إلى الأسرة الخامسة.



شكل (٨١) : نموذج مصنوع من الخشب الملون، يرجع إلى العصر المتوسط، يمثل صناعة الخبز.

وتدل النقوش الفرعونية القديمة على أن المصريين القدماء كانوا يصنعون الخبز، ويخبزونه في قوالب من الفخار حول الموقد. وفي الوقت نفسه كانوا يجهزون عجينةً خفيفة القوام تسمى «واجيت» (بمعنى الطازجة)، ويسكبونها في هذه القوالب الفخارية الشديدة الحرارة، والتي تبقى فيها لفترةٍ قصيرةٍ حيث تلفح الحرارةُ وجهي الرغيف، بينما يظل اللباب الداخلي نيئاً.

ويستعمل هذا الخبز غير الناضج في صناعة الجعة؛ حيث يقطع إلى فتاتٍ صغيرةٍ، ويوضع في وعاءٍ كبيرٍ، ثم يخلط بسائلٍ سكريٍّ ناتجٍ من نقع البلح، ويترك هذا الخليط ليتخمر، وبعد ذلك يصفّى، ويحفظ في جرارٍ فخاريةٍ صغيرةٍ يتم إغلاقها بإحكام.

وكذلك عرف المصريون القدماء النبيذ، وكانوا يصنعونه من عصير العنب الذى كان يزرع في الدلتا. وبرع المصريون - حينذاك - في صناعة النبيذ؛ حيث أنتجوا منه أنواعاً مختلفةً؛ مثل النبيذ الحلو (الطازج)، والنبيذ المُصفّى.

وكانت عناقيد العنب توضع في أوعيةٍ كبيرةٍ من الحجر، ويأتي الرجال ويمسكون بحبالٍ مدلاةٍ من عارضةٍ خشبيةٍ لحفظ توازنهم، ويدوسون العنب بأرجلهم على وقع الأناشيد وتصفيق الأيدى.

ويُعبَّأ عصير العنب بعد ذلك في أوعيةٍ كبيرةٍ حتى يتخمر بفعل فطريات الخميرة، ثم يُترَك ليتعتق في قدورٍ فخاريةٍ طويلةٍ ذات فوهاتٍ صغيرةٍ يتم إحكام إغلاقها بواسطة كتلٍ من الجبس.

وعلى الرغم من الدور الحيوى الهام الذى لعبته فطريات الخميرة في صناعة الخبز والجعة والنبيذ في مثل هذه المجتمعات البشرية القديمة، فإن حقيقة هذا الدور لم تدركه البشرية في حينه، بل اعتقد القدماء المصريون أن ذلك منحة من الإله الأكبر أوزيريس **Osiris** للبشرية، ثم أظهر العلم الحديث - بعد ذلك بالآف السنين - دور فطريات الخميرة في هذه العملية الحيوية الهامة.

وبالإضافة إلى ما سبقت الإشارة إليه من أغذيةٍ يتم إنتاجها بالتخمر منذ فجر التاريخ، فهناك عديد من الأغذية المتخمرة الأخرى؛ والتى مازالت تستخدم كغذاءٍ شهيٍّ فى شتى أنحاء العالم، سواء أكانت تنتج منذ آلاف السنين، أم بعد تطويرها وتحسين سبل إنتاجها.

فعلى سبيل المثال، تنتشر فى مصر بعض الأطعمة المتخمرة ذات النشأة التاريخية القديمة؛ مثل تخليل الخضراوات والفاكهة، وصناعة الكشك، ولبن الزير، بينما تُعْرَف فى دول جنوب شرق آسيا وفى اليابان أطعمة أخرى؛ مثل التمبى **Tempeh**، والأنكوم **Oncom**، وأنجاك**Ankak** ، والميزو **Miso**، وصوص الصويا (الشويو) **Soy sauce**، وغير ذلك من منتجاتٍ غذائيةٍ متخمرةٍ تدخل فى صناعتها الفطريات فى شتى أنحاء العالم.

وتلعب الفطريات حالياً دوراً هامًا فى مجال صناعة الأغذية المتخمرة، فقد يستخدم الفطر نفسه مباشرةً فى الصناعة؛ كما هى الحال فى صناعة الجبن الروكفور **Roque-fort**، والكاممبرت **Camembert**، والستلتون **Stilton**، والبراى **Brie**، والجاملوست **Gamlost**، أو قد يستخدم إنزيمات بعض هذه الفطريات أو نواتج تمثيلها الغذائى فى صناعة أغذيةٍ أخرى أو مشروباتٍ.

وبالإضافة إلى ما سبق، فإنه يمكن استخدام الكتلة الحيوية **biomass** للنموات الفطرية نفسها كغذاءٍ للإنسان، يصنع منها أطعمةٌ ذات محتوى عالٍ من البروتين الفطرى **mycoprotein**. وحالياً يتم إنتاج البروتين الفطرى تجارياً، ويستعمل فى تحسين نكهة وقوام عديدٍ من الوجبات الجاهزة السريعة التحضير.

وتتميز طبيعة النموات الفطرية بخلوها من الألياف، وسهولة هضمها. ويتم الإنتاج التجارى لمثل هذه الفطريات بإنمائها على مخلفاتٍ عضويةٍ سائلةٍ، مثل مخلفات صناعة الورق، أو مخلفات عضوية صلبة.

ويمكن لبعض الفطريات النمو على مخلفات عضوية سائلة ذات الحموضة العالية

التى تصل إلى ١ ، كما هى الحال فى الفطر ***Scytalidium acidophilum*** . وينمو هذا الفطر على هذه البيئة دون منافسة غيره من الأحياء الدقيقة الأخرى التى يصعب نموها تحت هذه الظروف؛ حيث يكوّن الفطر كتلة حيوية هائلة تستعمل كغذاء.

ويتشابه إنتاج البروتين الفطرى من الفطريات الهيفية مع إنتاج الخميرة، إلا أن بروتين الفطريات الهيفية يتميز بانخفاض محتواه من الأحماض النووية الريبوزية **RNA**، التى تزداد فى فطريات الخميرة؛ نظراً لارتفاع معدل انقسامها ونموها. ولكن يجب أن يؤخذ فى الحسبان– عند اختيار أحد الفطريات الهيفية لإنتاج البروتين الفطرى– عدم تكوين هذا الفطر لأية مادة سامة (توكسينات)، أو مضادات حيوية ، أو أية مادة أخرى غير مرغوبة ناتجة عن تمثيله الغذائى.

ولقد أمكن إنتاج بروتين فطرى من الفطر ***Fusarium graminearum*** بصورة تجارية، واستخدم فى تحسين القيمة الغذائية لبعض الأطعمة والمأكولات السابقة التجهيز، كما يضيف إليها طعم اللحم – على الرغم من خلوها منه – مما يجعلها شهية ومفيدة ورخيصة الثمن.

ويتميز الميسليوم الفطرى بقدرته على مضاعفة كتلته الحيوية مرة واحدة كل ثلاث ساعات تقريباً؛ حيث ينمو على مخلفات عضوية سائلة تحتوى على مواد كربوهيدراتية. ومن المتوقع أن يسهم الإنتاج التجارى للبروتين الفطرى إسهاماً فعالاً فى سد الاحتياجات الغذائية البروتينية فى دول العالم الثالث.

وهناك كثير من الدول المتقدمة التى اهتمت بإنتاج البروتين الفطرى من الفطريات الهيفية، واستعماله فى تجهيز الأطعمة، كما هى الحال فى المملكة المتحدة التى يعرض فيها هذا البروتين تحت الاسم التجارى **(Myco - protein)** . ولقد لاقى هذا الغذاء رواجاً كبيراً بين جمهور المستهلكين، ليس فقط لتشابه طعمه ورائحته باللحم البقرى، ولكنه أيضاً كغذاء صحى منخفض الطاقة (دايت)؛ نتيجة خلوه من الدهون الحيوانية والكوليسترول وانخفاض محتواه من الدهون المشبعة.

وعند مقارنة المحتوى البروتينى للبروتين الفطرى باللحم البقرى، نلاحظ انخفاض ذلك فى البروتين الفطرى، ولكن – على أية حال – يمكن مقارنة البروتين الفطرى باللبن ومنتجاته.

ومن الفطريات الأخرى التى تستعمل كغذاء منذ الحضارات الانسانية القديمة الأنواع المأكولة من فطريات عيش الغراب **mushrooms**، والتى بدأت زراعتها تجارياً منذ القرن الماضى. ولقد زاد الاهتمام بزراعة بعض أنواع عيش الغراب فى دول العالم الثالث على المخلفات العضوية الصلبة؛ وذلك لإنتاج غذاء بروتينى، وسوف نتناول ذلك لاحقاً بالتفصيل.

أولاً : صناعة الخبز:

يعود الفضل إلى قدماء المصريين فى صناعة الخبز الجيد التخمر وتسويته فى أفرانٍ؛ حيث انتقلت هذه الصناعة بعد ذلك - من خلال هجرة اليهود من مصر - إلى الدول الأخرى المحيطة بمصر ؛ مثل اليونان، وإيطاليا، ومنها إلى بقية دول العالم.

ولقد عمد المصريون القدماء إلى إضافة جزءٍ من العجين المتخمر المأخوذ من عجناتٍ سابقة إلى العجين الحديث؛ حيث أدى ذلك إلى استمرار نشاط فطر الخميرة المستخدم، ونقله عبر أجيالٍ متلاحقةٍ من العجنات؛ وذلك لإنتاج خبزٍ جيد الطعم.

واستمرت صناعة الخبز بنفس طريقة قدماء المصريين حتى بداية القرن التاسع عشر؛ حيث قام **Gray-Lussac** عام ١٨١٠ بوضع معادلةٍ توضح ماهية التخمر الكحولى الذى تقوم به فطريات الخميرة والمواد الناتجة من ذلك، والتى تلعب دوراً هاماً فى تحسين طعم وقوام رغيف الخبز الناتج.

وبعد ذلك بسنواتٍ ، أظهر عديد من العلماء - مثل **Küntzig**، و **Schwann**، و **Cagnaird - Latour** - أن عملية التخمر تتم نتيجةً لنمو خلايا جسدية لفطر ذى خلايا متبرعمة، أطلق عليه «**Meyen** عام ١٨٣٨ » اسم فطر السكر "***Saccharomyces***".

واستمرت هذه النظريات تحاول تفسير دور الخمائر فى عملية التخمر، فى وقتٍ سادت فيه نظرية التوالد الذاتى التى تفترض نشأة الأحياء من مواد غير حيةٍ؛ حتى أثبت العالم الفرنسى الشهير «لويس باستير **(1895 - 1822) Pasteur**» دور الخمائر فى التخمر الكحولى والتخمرات اللاهوائية.

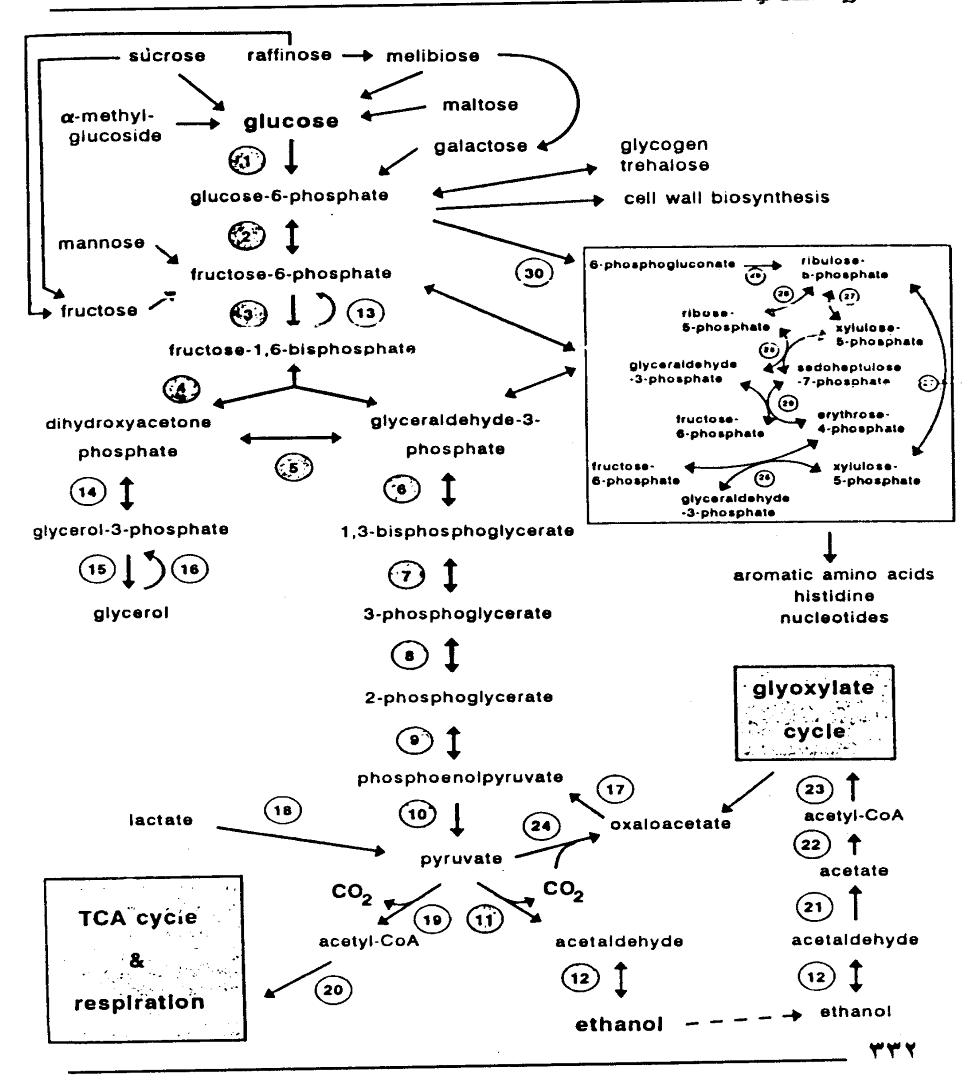
وفـى معامـل كارلسـبرج Carlsberg فـى كوبنهاجـن (الدانمـرك)، اسـتطاع هانسن (1880) Hansen إنتاج كمياتٍ تجاريةٍ من خلايا الخمـيرة، ثم انتـشر إنتاجها بعد ذلك فى عديدٍ من دول العالـم؛ مثل الدانمـرك، وألمانيـا، والمجر، وطـوِّر إنتاجُها.

ويوجد الآن عديد من الطرق المستخدمة فى إنتاج خميرة الخباز، وتنوعت أشكالها التجارية؛ مثل عجائن الخميرة المضغوطة compressed yeast، والخميرة الجافة النشطة active dry yeast، والخميرة الجافة النشطة لحظيًا instant active dry yeast، وغير ذلك من أشكالٍ تجاريةٍ أخرى.

وعلى أية حال، يجب أن تكون الخميرة المستخدمة فى صناعة الخبزة نشطةً، وقادرةً على النمو تحت الظروف الهوائية مخمرةً - خلال نموها - الدقيق المستخدم فى عمل العجين؛ منتجةً كميةً كافيةً من غاز ثانى أكسيد الكربون؛ الذى يجعل قوام الخبز المصنوع إسفنجيًا. كما يجب أن تظل هذه الخميرة محتفظةً بصفاتها طوال فترة تخزينها.

وتقوم الخميرة- خلال نموها فى العجين - باستهلاك السكريات الموجودة فى الدقيق؛ منتجةً خلال ذلك غاز ثانى أكسيد الكربون، وبعض المواد الكيميائية الأخرى كنواتج لتمثيلها الغذائى، كما تعمل الخميرة على تغيير شبكة الجلوتين، وهذا كله يعطى طعماً مميزاً للخبز.

وتشارك الإنزيمات الموجودة فى دقيق القمح - مثل إنزيم ألفا أميليز - فى تحليل جزءٍ من النشا إلى سكرياتٍ، بالإضافة إلى أن دقيق القمح يحتوى على نحو ١-٢٪ سكرياتٍ؛ تبعاً لنوعية هذا الدقيق. وتتضمن هذه السكريات الجلوكوز، والفركتوز، والسكروز، والمالتوز، والرافينوز؛ بالإضافة إلى بعض السكريدات التى يطلق عليها اسم «جلوكو فركتوزانات glucofructosans».


sucrose
raffinose
melibiose
α-methyl-
glucoside
glucose
maltose
galactose
glycogen
trehalose
cell wall biosynthesis
1
glucose-6-phosphate
2
mannose
fructose-6-phosphate
30
fructose
3
13
fructose-1,6-bisphosphate
4
dihydroxyacetone
phosphate
5
glyceraldehyde-3-
phosphate
6-phosphogluconate
ribulose-
5-phosphate
27
ribose-
5-phosphate
xylulose-
5-phosphate
glyceraldehyde
-3-phosphate
sedoheptulose
-7-phosphate
29
fructose-
6-phosphate
erythrose-
4-phosphate
fructose-
6-phosphate
xylulose-
5-phosphate
glyceraldehyde
-3-phosphate
aromatic amino acids
histidine
nucleotides
14
glycerol-3-phosphate
15
16
glycerol
6
1,3-bisphosphoglycerate
7
3-phosphoglycerate
8
2-phosphoglycerate
9
phosphoenolpyruvate
glyoxylate
cycle
17
23
10
lactate
18
24
oxaloacetate
acetyl-CoA
22
pyruvate
acetate
TCA cycle
&
respiration
CO_2
CO_2
21
19
11
acetyl-CoA
acetaldehyde
acetaldehyde
20
12
12
ethanol
ethanol

شكل (٨٢) : التمثيل الحيوى للكربوهيدرات بواسطة فطر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* . توضح الأشكال المربعة الدورات الحيوية التى تتم من خلال مسار دورة السكريات الخماسية المفسفرة. وفيما يلى الإنزيمات المشتركة فى هذا التفاعل:

1-12, glycolytic pathway enzymes 13, fructose- 1,6 bisphosphatase; 14, glycerol-3- phosphate dehydrogenase; 15, glycerol- l-phosphatase; 16, glycerolkinase; 17, phosphoenolpyruvate, carboxykinase; 18. lactatc dehydrogenase; 19, pyruvate de-hydrogenasc; 20,23, citratc synthase; 21, aldehyde dehydrogenase; 22, acetyl- CoA synthetase; 24, pyruvate carboxylase; 25, 6-phosphogluconate dehydrogenase; 26, ribose phosphate isomerase; 27, ribose phosphate epimerase; 28, transketolase; 29, transaldolase; 30, glucose - 6- phosphate dehydrogenase.

ويبدأ التخمر بتحليل الخميرة لسكريات السكروز والجلوكوز، ويلي ذلك تحليل الفركتوز. وفى أثناء نمو خلايا الخميرة واستهلاك هذه السكريات تكون إنزيمات أميليز الدقيق قد حللت جزءاً من النشا وأنتجت المالتوز، وحينئذ تبدأ الخميرة فى تحليله وإنتاج غاز ثانى أكسيد الكربون.

ويمكن إيجاز طرق تصنيع الخبز فيما يلى:

١- خلط جميع المكونات، ثم إجراء عملية التخمر على دفعات.

٢- يتم إجراء عملية التخمر على جزء من العجينة، ثم خلطها مع بقية العجينة.

٣- الخلط المستمر للمكونات، وإجراء عملية التخمر ثم التقطيع، أو التخمر لقطع الخبز المُقَطَّعة بصورة نهائية.

٤- التخمر السائل ؛ حيث يتم الخلط المستمر والتقطيع والتخمير المستمر على خط التصنيع.

ويوضح شكل (٨٢) ملخص عمليات تمثيل الكربوهيدرات بواسطة فطر خميرة الخباز ***Saccharomyces cerevisiae***.

ثانياً : إنتاج الأغذية المتخمرة طبيعياً:

تعتبر الأغذية المتخمرة طبيعيًا من أقدم أنواع الأغذية المصنعة التى عرفها الإنسان؛ حيث قام بها الإنسان البدائى فى محاولة منه لحفظ غذائه لفترة أطول عن طريق تخمره طبيعيًا. ومن أكثر الأصناف المستخدمة فى تلك الأغذية: الحبوب، والبقول، وبعض البذور الزيتية، إلا أن هذا لايمنع من استخدام أصنافٍ أخرى.

وبصفةٍ عامةٍ، تختلف نوعية الغذاء المتخمر وطريقة التخمر ونوعية الأحياء الدقيقة المشتركة فى التخمر باختلاف المنطقة الجغرافية من العالم، وظروفها الإنتاجية والاجتماعية والمعيشية؛ ومن هنا نجد أنواعاً متعددةً من الأغذية المتخمرة طبيعيًا، والتى تضم مئات الأنواع من منتجات الحبوب واللحوم والأسماك والبقوليات والألبان والخضراوات والفاكهة ونشا الذرة، وغير ذلك من منتجاتٍ لا حصر لها.

إلا أننا سوف نتعرض فى هذا الباب لبعض نماذج الأغذية التى يستخدم فى تخمرها أنواع معينة من الفطريات ؛ سواء الهيفية أم الخمائر.

١- مميزات الفطريات المستخدمة فى التخمرات الطبيعية:

أ- إفراز الإنزيمات التى تعمل على تحليل مكونات المادة الغذائية المستخدمة فى التخمر، سواء أكانت مادةً بروتينيةً، أم كربوهيدراتيةً، أم دهنيةً. وتتحول هذه المواد الغذائية بفعل الإنزيمات الفطرية إلى وحداتٍ صغيرةٍ، تتحول بعد ذلك إلى مركباتٍ أخرى؛ مما يؤدى إلى تغير مظهر المادة الغذائية الخام وتركيبها وقوامها

وطعمها ولونها ونكهتها؛ مما يزيد من درجة استساغتها، ويصبح المنتج النهائي أفضل قبولاً لدى المستهلك.

ب- يؤدى نمو الفطريات إلى تغيير مظهر الغذاء؛ فعلى سبيل المثال يؤدى نمو الفطر ***Rhizopus oligosporus*** على سطح التمبى **Tempeh** إلى نمو ميسليوم أبيض اللون مرغوب لدى المستهلك فى صورته النهائية، كما يعمل نمو الميسليوم الفطرى على ترابط بذور فول الصويا بعضها مع بعض فى التمبى؛ مما يجعله منتجاً متماسكاً فى النهاية. وكذلك الحال فى نمو ميسليوم الفطر ***Neurospora intermedia*** على كيك الأونكوم **Oncom**؛ حيث يغطى سطح المنتج بلونٍ برتقاليٍّ بنفسجيٍّ مميزٍ؛ نظراً لتكوين الفطر لكونيدياته.

جـ- تفرز بعض الفطريات المستخدمة فى إنتاج هذه الأغذية صبغات ملونة أثناء نموها على المنتج الغذائى؛ مثال ذلك الفطر ***Monoascus purpureus***؛ الذى يفرز صبغةً حمراء تعرف باسم "**monoascocabin**" أثناء تخمر الانجكاك **Angkak**.

د- يؤدى استخدام هذه الفطريات فى تخمير الأغذية إلى زيادة قيمتها الغذائية؛ نظراً لارتفاع محتواها البروتينى إلى نحو ٧ - ١٠٪، وكذلك محتواها من الفيتامينات والأحماض الأمينية والدهنية، ومن الإنزيمات الهاضمة، وغير ذلك من مكوناتٍ مفيدةٍ.

هـ- يؤدى نمو بعض الفطريات المستخدمة فى تخمير الأغذية إلى زيادة تحملها للحفظ فتراتٍ طويلةً دون فسادها أو تلوثها بالفطريات الضارة؛ فعلى سبيل المثال، وجد أن الأغذية التى يستعمل فى إنتاجها الفطر ***Rhizopus oligosporus*** لاتحتوى على توكسيناتٍ فطريةٍ، وخاصة الأفلاتوكسينات.

ليس هذا فقط، بل إن هذا الفطر يستطيع أن يحلل مثل هذه الأفلاتوكسينات التى قد تلوث بعض الأغذية؛ حيث تصل قدرته فى تحليلها إلى نحو ٤٠٪. كما

تثبط النموات الفطرية للفطر السابق نموات الفطر ***Aspergillus flavus*** و ***A. parasiticus*** المفرزة للأفلاتوكسينات؛ كما يثبط الفطر ***R. oligosporus*** إفراز بعض أنواع البكتيريا لتوكسيناتها؛ ومثال ذلك : بكتيريا ***Pseudomonas cocovenans*** المنتجة للتوكسوفلافين **toxoflavin** ؛ وهو مركب أصفر اللون يسبب تسمماً غذائياً.

و- تقوم الفطريات بخفض محتوى الغذاء من الموادة الضارة غذائياً **antinutritional factors**؛ مثل مثبطات إنزيمات تحليل البروتينيات **protease inhibitors**، واللكتينينات **lectins**، والتانينات **tannins**، والسكريات المسببة للانتفاخات **flatus producing sugars**، بالإضافة إلى المواد الرابطة للمعادن **metal binding agents**، والتى تعمل على اعاقة إمتصاص الجسم لمثل هذه المعادن.

وتستخدم مثل هذه المنتجات الغذائية فى وجبة الإفطار، أو كمحسناتٍ للطعم أو النكهة (منكهات)، أو كمواد ملونةٍ، أو كمشروباتٍ، أو كأطباقٍ رئيسيةٍ. وسوف نتعرض لبعض النماذج من منتجات فول الصويا المتخمرة؛ والتى تناسب ذوق المستهلك فى منطقة الشرق الأوسط.

٢- نماذج لبعض الأغذية المتخمرة:

أ- التمبى **Tempe (tempeh)**:

يعتبر التمبى من المنتجات المتخمرة التى زاد الإقبال عليها فى كثيرٍ من دول أوروبا والولايات المتحدة؛ حيث يعتبر غذاءً نباتياً بديلاً للحوم. ويصنع هذا المنتج أساساً من فول الصويا، إلا أنه يمكن صناعته من أنواع البقوليات المختلفة، وأيضاً من القمح أو الشعير، أو من خليطٍ منهما.

وينتج التمبى عن تخمر فلقات فول الصويا بعد إزالة القصرة وطهيها جزئياً؛ حيث يتكون كيك مغطى بنمواتٍ هيفيةٍ بيضاء اللون للفطر ***Rhizopus oligosporus*** المستخدم فى التخمر.

ويشبه التخمر الذى يحدث فى التمبى تلك التخمرات التى تحدثها بعض الفطريات المستخدمة فى تسوية الجبن؛ حيث يحدث أثناء التخمر تحلل للبروتينات والدهون والكربوهيدرات، وينتج عن ذلك طعم ونكهة قوية مرغوبة، خالية من الأمونيا.

والتمبى الطازج ذو طعمٍ مقبولٍ ورائحةٍ تشبه ثمار عيش الغراب، وبعد قليه فى الزيت يكون طعمه حريفاً، ويشبه طعم البندق. وترجع هذا الحرافة إلى انفراد بعض الأحماض الدهنية. وفى العادة، يتم تقطيع التمبى إلى شرائح رقيقةٍ، وتغمر فى صوص الصويا **Soy sauce**، أو فى محلولٍ ملحيّ تركيزه ٥-١٠٪ قبل عملية القلى.

وعادةً ما يقوم المستهلك بقلى شرائح التمبى المملحة فى الزيت مباشرةً، أو قد تُتبل فى خليطٍ من دقيق الأرز أو الذرة مع لبن جوز الهند، ثم تقلى فى الزيت بعد ذلك. وأحياناً، تغمر هذه الشرائح فى محلول التمر هندى المغلى.

وقد تقطع كيكة التمبى فى صورة مكعباتٍ، ثم تستخدم هذه المكعبات كبديلٍ للحم عند تجهيز شوربة الخضار؛ والتى تصنع من مكعبات البطاطس، وشرائح الفلفل الحار، وغير ذلك من خضرواتٍ أخرى. كما يقوم بعض المستهلكين بسلق شرائح التمبى، ثم تشوى على النار وتؤكل مثل الهامبورجر.

ويقبل المستهلكون على المنتجات الغذائية المتنوعة المصنوعة من التمبى فى كثيرٍ من دول جنوب شرق آسيا؛ مثل إندونسيا، وماليزيا، وسنغافورة، هذا إلى جانب عديدٍ من دول أوروبا الغربية والولايات المتحدة.

وتتبارى بعض شركات الأغذية العالمية فى إنتاج مأكولاتٍ شهيةٍ من كيك التمبى، ويمكن تلخيص مراحل تصنيع التمبى فيما يلى:

* تغسل بذور فول الصويا - أو البذور الأخرى المستعملة - للتخلص من الشوائب العالقة بها، ثم تنقع فى الماء. وقد تزال قصرة البذور الجافة أولاً من خلال جرش البذور فى مطحنةٍ ضخمةٍ. وفى بعض الأحيان يتم نقع البذور لفترةٍ قصيرةٍ فى الماء، ثم تزال القصرة، إلا أن هذه الطريقة قليلة الاستخدام.

* بعد إزالة قصرة بذور فول الصويا، تنقع البذور المقشورة لمدة ساعتين فى محلول حمض لاكتيك مخفف على ٢٥°م، أو لمدة نصف ساعة على حرارة ١٠٠°م . وفى أحيانٍ أخرى تنقع هذه البذور المقشورة فى الحمض لمدة ٢٤ ساعةً على درجة حرارة الغرفة؛ حتى تقوم البكتيريا بتكسير سكر الرافينوز والستاكيوز المسئولين عن حدوث الانتفاخات المعوية الناتجة عن هضم المنتجات الغذائية المصنوعة من فول الصويا. وتؤدى زيادة الحموضة الناتجة عن تكسير السكريات السابقة إلى تشجيع نمو الفطر بعد ذلك.
* بعد انتهاء المرحلة السابقة، يتم طهى البذور المقشورة بعد نقعها فى ماء درجة حرارته ١٠٠°م لمدة تتراوح بين عشر دقائق و ثلاث ساعاتٍ؛ حيث تؤدى هذه المعاملة إلى قتل الكائنات الحية الدقيقة التى نشطت خلال فترة نقع البذور. كما يؤدى تعرض البذور لدرجة الحرارة العالية إلى إتلاف مثبطات إنزيم التربسين، وأيضاً إلى توفير بعض المركبات التى يحتاج إليها الفطر فى نموه. وبعد انتهاء هذه المعاملة تبرد البذور إلى حرارة ٣٧°م، ويتم التخلص من الماء المستخدم فى الطهى (السلق).
* تفرد فلقات بذور فول الصويا المسلوقة فى صوانٍ خشبيةٍ أو من الصلب غير القابل للصدأ بحيث يتراوح سمك الفلقات بين ٢سم و ٣سم؛ ثم تلقح بنموات الفطر ***Rhizopus oligosporus*** بمعدل ١-٣ جرامات من مسحوق التمبى الجاف المحتوى على الفطر لكل كيلو جرام بذور، وبعد ذلك يتم التحضين على حرارة ٣٧°م لمدة ١٨-٢٠ ساعة. ويجب تغطية الصوانى - بما عليها من فلقات فول الصويا المسلوقة الملقحة بالفطر - بورق زبدةٍ أثناء التحضين؛ وذلك بغرض تقليل فقد الرطوبة.

ويراعى توفير نسبةٍ كافيةٍ من الرطوبة فى فلقات فول الصويا؛ حتى نضمن نمواً جيداً للفطر المستخدم فى إنضاجه. كما يجب توفير تهويةٍ كافيةٍ ودرجة حرارةٍ مناسبةٍ؛ حيث إن ذلك يحدد نمو الفطر وجودة المنتج الغذائى النهائى.

وعند نهاية فترة التحضين تشاهد نموات ميسليومية بيضاء اللون تغطى سطح فلقات بذور فول الصويا المسلوقة وتتخللها؛ حتى تصبح هذه الفلقات متماسكةً بعضها مع بعضٍ. وفى هذه المرحلة يتم تقطيع كيكة التمبى إلى مكعباتٍ صغيرةٍ؛ أبعادها ٢,٥سم × ٢,٥سم.

وقد تعبأ مكعبات التمبى الطازجة، وتطرح للمستهلك مبردةً أو مجمدةً. وفى بعض الأحيان قد تجفف هذه المكعبات على حرارة ١٠٤ْم، تم تعبأ فى أكياسٍ من البولى إيثيلين، وتباع.

ويعتبر التمبى غذاءً شعبيًا فى دول جنوب شرق آسيا، وقد يتم تحضيره منزليًا باستخدام أوراق الموز، بدلاً من الصوانى التى سبقت الإشارة إليها.. وفى هذه الحالة تفرد فلقات بذور فول الصويا المسلوقة على أوراق الموز بعد غسلها، ثم تلقح بنموات الفطر ***R. oligosporus***، وتغطى بأوراق موزٍ أخرى نظيفةٍ، وتحضن على درجة حرارة الغرفة.

ويؤدى نمو ميسليوم فطر ***R. oligosporus*** على فلقات بذور فول الصويا المسلوقة إلى تحليل المواد البروتينية والدهنية، وإنتاج مضادات الأكسدة؛ مما يكسب المنتج النهائى طعماً مقبولاً دون أن تزداد نسبة حموضته؛ وبذلك ترتفع القيمة الحيوية لبروتين فول الصويا، ويزداد محتوى المنتج الغذائى من الفيتامينات.

ويتم إعداد اللقاح الأولى (البادىء) من الفطر المستخدم فى إنضاج التمبى فى حالة صناعته منزليًا (الإنتاج الشعبى التقليدى)؛ وذلك عن طريق تجهيز عجينةٍ من كيك التمبى السابق تجهيزه؛ والذى ينمو عليه الفطر ***R. oligosporus***، ثم تجفف هذه العجينة – بعد فردها – تحت أشعة الشمس، وتصحن إلى مسحوق يحتوى على هيفات الفطر وجراثيمه.

وفى حالاتٍ أخرى، يتم إنماء الفطر على أوراق نبات الكركديه، أو على كيك الأرز، ويستعمل كبادىء. ويجب اتباع الوسائل الكفيلة بعدم حدوث تلوثٍ بفطريات

أخرى أو بكتيريا ضارة؛ حيث يؤدى ذلك إلى عدم الحصول على المنتج المرغوب، وقد ينتج عن التلوث أخطار تهدد صحة المستهلكين.

فول الصويا

↓

نزع القشرة بالطريقة الجافة وجرش الفلقات

↓

الغسيل والتخلص من الماء الزائد

↓

الطهى (السلق) لمدة ٤٥ دقيقة / ١٠٠°م

↓

التخلص من الماء الزائد والتبريد بواسطة جهاز استخلاص يعمل بالطرد المركزى.

↓

تلقيح الفلقات المسلوقة بفطر ***Rhizopus oligosporus*** بنسبة ١-٣ جرامات مسحوق التمبى الجاف المحتوى على الفطر لكل كيلو جرام بذور.

↓

يضاف ٣٠٠ ملليلتر خل تفاح (١٢مل/كجم)

↓

تفرد الفلقات المطبوخة والملقحة فى صوانٍ بسمك ٢-٣سم، وتغطى بغطاء بلاستيك مناسب (أو ورق زبدة).

↓

تحضن الصوانى على ٣٢°م / ١٦-٢٤ ساعة.

↓

التمبى (يقطع ، ويعبأ، ويبرد أو يجمد ، أو يتم تجفيفه).

شكل (٨٣) : طريقة صناعة التمبى تجاريًا من بذور فول الصويا.

وقد يصنع التمبى باستخدام بذورٍ لنباتاتٍ بقوليةٍ أخرى؛ مثل العدس أو الفاصوليا أو الترمس أو الفول البلدى. ولقد تمت صناعة التمبى فى مصر باستخدام بذور الفول البلدى، ووجد أن خلط ناتج التخمر مع مخلوط مكونات الطعمية (البصل - البقدونس - الكزبرة - الكرات...) أعطى منتجاً عالى القيمة الغذائية، ونال قبول المستهلك المصرى أكثر من نفس المنتج باستخدام فول الصويا.

ب- الأونكوم Oncom (ontjom):

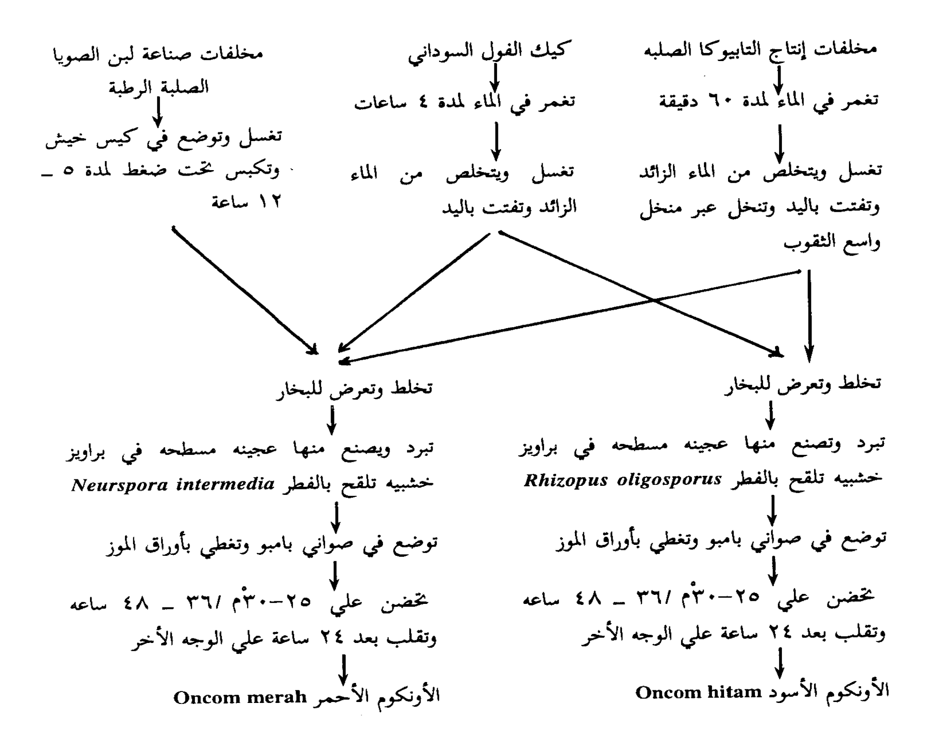
يصنع الأونكوم من مخلفات عصر بذور الفول السودانى (كسب الفول السودانى) بعد عملية استخلاص الزيت، وأيضاً من مخلفات صناعة لبن الصويا، ومن مخلفات إنتاج التابيوكا (نبات درنى نشوى).

ويستخدم فى إنضاج الأونكوم فطر ***Rhizopus oligosporus***؛ الذى يستخدم أيضاً فى إنضاج التمبى، أو الفطر ***Neurospora intermedia***؛ وبذلك يختلف نوع الأونكوم الناتج تبعاً لنوع الفطر المستخدم فى تجهيزه.

فعند استخدام الفطر ***R. oligosporus*** فى الإنضاج، ينمو ميسليومه على سطح الأونكوم، ثم يُغَطِّى سَطْحُه بالأكياس الأسبورانجية السوداء التى تعطى السطح لوناً داكناً؛ لذا يطلق على المنتج اسم «الأونكوم الأسود **oncom hitam**»، بينما يؤدى نمو الفطر N. ***intermedia*** إلى تكوين الكونيديات ذات اللون المحمر؛ لذا يسمى المنتج «الأونكوم الأحمر **oncom merah**».

ويستخدم الأونكوم بديلاً للحم؛ مثله فى ذلك مثل التمبى. وعادةً ما يتم تقطيع الأونكوم إلى شرائح تقلى فى الزيت، أو قد يستخدم فى صناعة الشوربات. ويتميز الأونكوم بطعمه المشابه لطعم اللحم، وقوامه الطرى المقبول لدى جمهور المستهلكين.

ويوضح شكل (٨٤) طريقة صناعة الأونكوم.



شكل (٨٤) : الطريقة التقليدية لصناعة الأونكوم منزلياً فى أندونيسيا.

جـ - صوص الصويا (الشويو) Soy souce (shoyu):

صوص الصويا عبارة عن سائل بنى اللون، له طعم اللحم المملح. ويتم تصنيع هذا الغذاء عن طريق تحليل بروتينات بذور فول الصويا فى وجود دقيق القمح، وأحياناً بدونه. وتستخدم فى هـذا التحليـل إنزيمـات الفطر *Aspergillus oryzae* فى بيئة تحتوى على ١٨٪ ملحاً.

ويستخدم صوص الصويا لتحسين طعم ونكهة المأكولات المختلفة، كما يستخدم كفاتح للشهية، بالإضافة إلى قدرته على تحسين الهضم بصفةٍ عامةٍ.

وتختلف طرق إنتاج صوص الصويا من بلدٍ إلى آخر؛ وبالتالى يختلف المنتج نفسه تبعاً للدولة المنتجة له، سواء أكانت اليابان، أم الصين، أم إندونسيا، أم أى بلدٍ آخر من منطقة جنوب شرق آسيا.

وفيما يلى خطوات إنتاج صوص الصويا بالطريقة اليابانية:

* تغسل بذور فول الصويا للتخلص من الشوائب العالقة بها، ثم تنقع فى ماء فاتر - على درجة حرارة الغرفة - لمدة ١٠ ساعاتٍ - ١٢ ساعة. ويجب تغيير الماء كل فترةٍ؛ حتى لايؤدى نمو البكتيريا الملوثة إلى خفض رقم الحموضة؛ وفى هذه المرحلة يتضاعف وزن البذور نتيجة تشربها للماء.
* تصفى البذور التى سبق نقعها، ثم تطهى فى وعاءٍ تحت ضغط (أوتوكلاف) على ضغط واحد جوى لمدة ساعة، وبعد ذلك تبرد بسرعة.
* يتم تحميص حبوب القمح - أو دقيق القمح - على حرارة ١٧٠ْم - ١٨٠ْم لعدة دقائق، ثم تجرش الحبوب، وتترك لتبرد.
* يجهز اللقاح الأولى للفطر (البادىء)؛ الذى يطلق عليه اسم «كوجى **Koji**»؛ وهى تعنى الحبوب النامى عليها الفطر **mouldy grains**. ويسمى «الكوجى» تبعاً لنوع الحبوب المنمى عليها الفطر؛ فقد يكون «كوجى أرز **rice koji**» ، أو «كوجى شعير **barley koji**»... وهكذا. وفى بعض الأحيان يسمى الكوجى تبعاً للون المنتج النهائى بعد نمو الفطر عليه، أو لنوعيته.

والكوجى عبارة عن أحد أنواع التخمرات الصلبة، التى تستخدم فيها الفطريات أو

غيرها من الأحياء الدقيقة الأخرى. وتُخْتار مثل هذه الأحياء الدقيقة بناءً على قدرتها على إفراز الإنزيمات المسئولة عن تخمر المواد الغذائية بطريقةٍ معينةٍ؛ منتجةً فى النهاية المنتج المرغوب.

ويعود الفضل إلى هذا الغذاء المتخمر (الكوجى) فى عزل أول الإنزيمات التى استخدمت بعد ذلك تجارياً، وأطلق عليها – حينذاك – اسم «إنزيم تاكا ديستيز **Ta-kadiastase**»؛ نسبةً إلى العالم اليابانى **"Dr. Takamine"**؛ الذى أنتج إنزيم الأميليز بتنمية الفطر ***Aspergillus oryzae*** على الأرز المطهى على البخار. ولقد قام هذا العالم – بعد ذلك – بتجفيف الإنزيم المنتج وحفظه فى صورة مسحوقٍ جافٍّ.

ويعتبر «كوجى الأرز **rice koji**» من المواد الأساسية المستخدمة فى صناعة نبيذ الأرز المعروف باسم «الساكى **sake**».

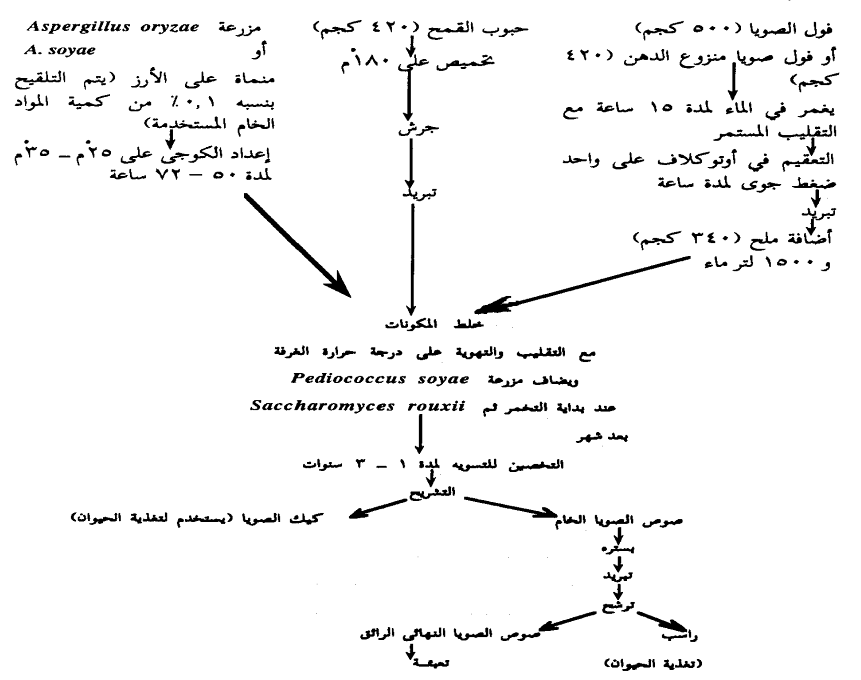
وعند تجهيز صوص الصويا، يتم إعداد اللقاح الأولى من الفطر (البادىء – الكوجى)؛ وذلك بتنمية الفطر على بيئة الأرز المسلوق. ويضاف هذا اللقاح إلى خليط بذور فول الصويا السابق طهيه، وتعقيمه مع حبوب القمح المحمصه والمطحونة بنسبة ١ : ١. ويستعمل لقاح فطرى بمعدل ١–٢٪.

ويتم تحضين المخلوط السابق على حرارة ٢٥°م – ٣٥°م لمدة ٤٥ ساعة. ويحتوى الكوجى الناتج على خليطٍ من فول الصويا وحبوب القمح والنموات الفطرية، بالإضافة إلى الإنزيمات المحللة، والتى تشمل الأميليز والسليوليز والبروتييز وغيرها.

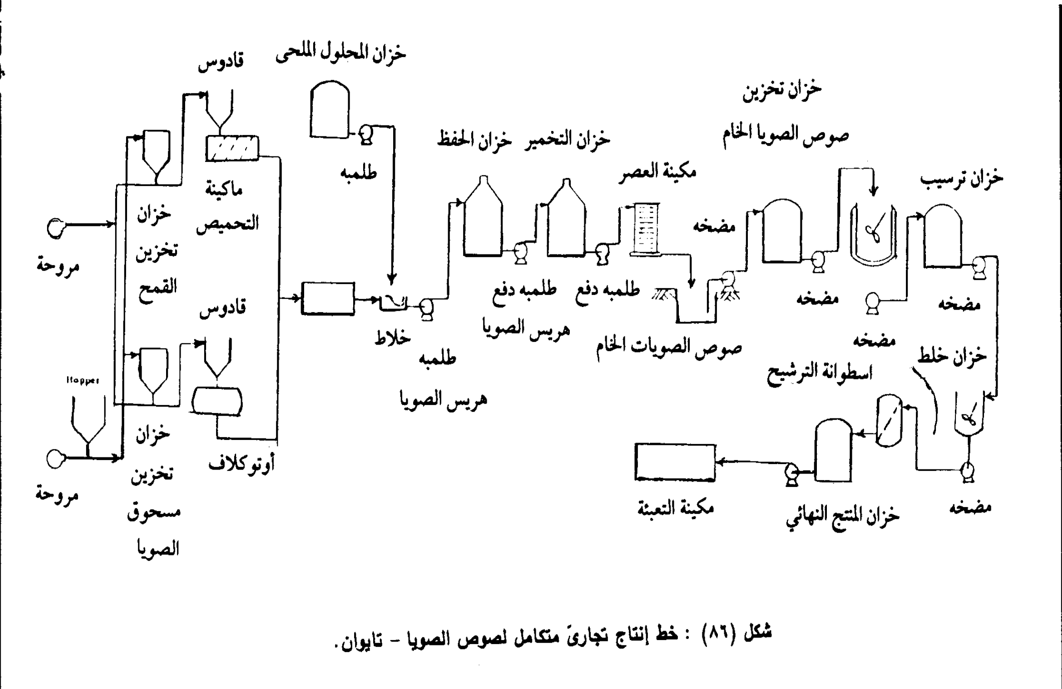
* يتم خلط «الكوجى» بمحلولٍ ملحيٍّ تركيزه ٢٣٪ بنسبة ١ : ١,٥؛ وذلك لعمل الهريس **mash**؛ ثم يلقح هذا الهريس بمزرعةٍ نقيةٍ من بكتيريا ***Pediococcus soy-ae***، وتحضن على درجة حرارة الغرفة لمدة شهرٍ.
* بعد انتهاء فترة التحضين السابقة يضاف لقاح من فطر الخميرة ***Saccharomyces rouxii***؛ وذلك بغرض التحكم فى طبيعة ونواتج التخمر، وأيضاً لتحسين طعم ونكهة المنتج النهائى. ويتم التحضين لفترةٍ طويلةٍ عادةً، تتراوح بين سنةٍ واحدةٍ وثلاث سنواتٍ على درجة حرارة الغرفة.
* بعد تمام فترة التحضين ، يتم الترشيح الغشائى تحت ضغط؛ للحصول على المنتج النهائى (صوص الصويا) فى أسرع وقتٍ، دون فقدٍ لمركبات النكهة التى تكونت

خلال فترة الإعداد الطويلة. وبعد ذلك تتم بَسْتَرَة صوص الصويا الناتجة على حرارة ٧٠ْم - ٨٠ْم، ثم ترشح مرةً أخرى بعد التبريد؛ للتخلص من المواد العالقة، والتى قد تكون تكونت خلال المعاملة الحرارية السابقة. ثم يعبأ المنتج النهائى فى زجاجاتٍ سعة الواحدة لتر أو أقل. وقد تضاف - أحياناً - أحد أملاح البنزوات كمادةٍ حافظةٍ.

ويوضح شكل (٨٥) خطوات صناعة صوص الصويا على الطريقة اليابانية (الشويو اليابانى).



شكل (٨٥) : خطوات صناعة صوص الصويا على الطريقة اليابانية (الشويو اليابانى).



شكل (٨٦) : خط إنتاج تجارىّ متكامل لصوص الصويا - تايوان.

ويمكن صناعة صوص الصويا بطريقة كيميائية؛ وذلك بعمل تحليل حامضيّ لمخلوط بذور فول الصويا وحبوب القمح باستخدام حمض هيدروكلوريك تركيزه ٢٠٪ على درجة حرارة الغليان لمدة ١٢ - ١٦ ساعة. وبعد أن يبرد المستحضر السابق يتم ترشيحه، ثم معادلة الحموضة بالصودا الكاوية، وضبطها عند رقم حموضه ٤,٥، يلى ذلك بسترة المنتج، وإضافة الملح ثم التعبئة.

ويختلف صوص الصويا المنتج بطريقة كيميائية عن ذلك المنتج بطريقة حيوية باستعمال الفطر ***Aspergillus oryzae*** فى الطعم والنكهة تماماً، ولايستخدم ذلك المنتج الكيميائى مطلقاً فى دول جنوب شرق آسيا، ولكنه يستعمل فى الدول الأوروبية.

وتعتبر الدول العربية مستهلكةً لصوص الصويا بدرجة متوسطة؛ حيث تأتى فى المرتبة الثالثة بعد جنوب شرق آسيا وأمريكا الشمالية، ويبلغ متوسط الاستهلاك السنوى لصوص الصويا فى المنطقة العربية نحو ٦٥٠ طنًا سنويًا.

د - عجائن الصويا المتخمرة **Fermented soybean pasts:**

تصنع من بذور فول الصويا عدة أنواع من العجائن المتخمرة؛ منها الميزو **Miso**، والتوكو **Tauco** الأندونيسى، والدونيانج **Doenjang** الكورى.

ويعتبر الميزو أكثر عجائن الصويا المتخمرة شهرةً، وهو عبارة عن عجينة لينة ذات طعم اللحم المملح. وتتميز هذه العجينة بارتفاع نسبة البروتين بها.

وتصنع عجينة الميزو من بذور فول الصويا، أو من مخلوط الصويا والأرز والشعير. ويستخدم فى تسويتها الفطر ***Aspergillus oryzae*** أو ***A. soyae***، مع فطر الخميرة ***Saccharomyces rouxii***.

ويتراوح لون العجينة بين الأصفر الذهبى والبنى، وتشبه فى ملمسها الجبن القريش. ويستخدم الميزو فى صناعة الشوربات بأنواعها المختلفة، وفى صناعة مكعبات الشوربة

الجاهزة. كما يستعمل الميزو كمحلولٍ للتخليل، وأيضاً يضاف إلى الأسماك لتغطية الطعم السمكى (زفارة السمك).

وتتم صناعة الميزو تجارياً بنقع بذورِ فول الصويا فى الماء على حرارة ٢٥°م لمدة ١٦–١٧ ساعةٍ حتى تتشرب الماء، ثم يطْهَى على نصف ضغط جوى لمدة ساعةٍ فى الميزو ذى اللونِ الأصفر الذهبى، أو على ضغط جوى واحد لمدة ساعتين فى الميزو ذى اللون البنى الداكن.

ويجهز اللقاح الأولى (البادىء) للفطر المستخدم فى إنضاج الميزو (والذى يطلق عليه كوجى **Koji**) باستخدامِ حبوب الأرز أو الشعير بعد نقعها فى الماء لمدة ١٧ ساعةً على حرارة ٢٥°م، ثم تُطْهَى على البخار لمدة ٧٠ دقيقة، ثم تترك لتبرد.

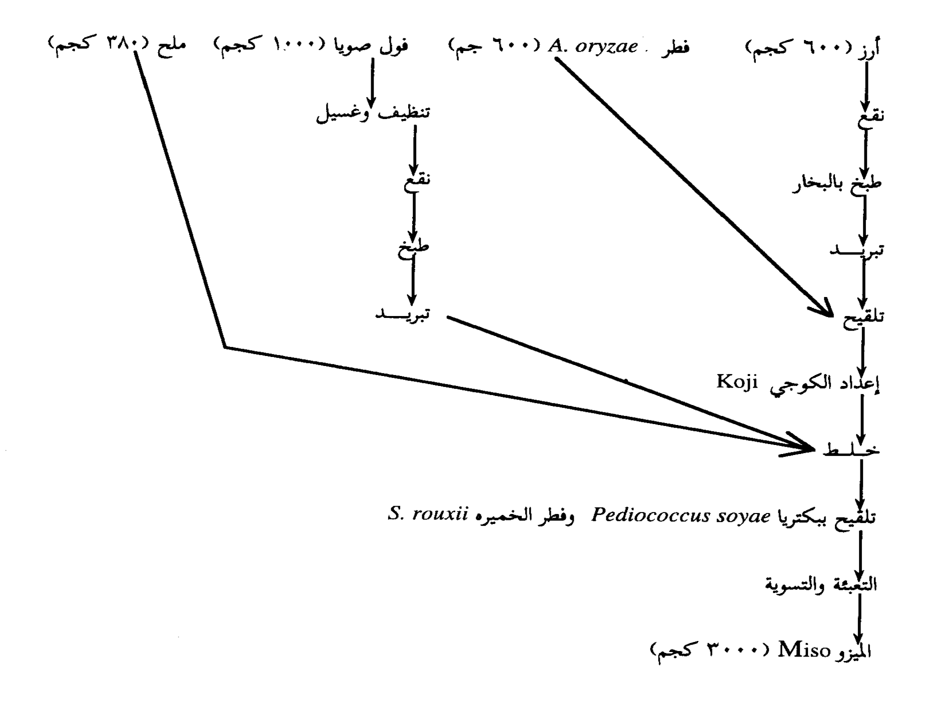
ويتم تلقيح الحبوب المطهية بالفطر ***A. oryzae***، ثم تفرد الحبوب الملقحة فى صوانٍ من الخشب أو الصلب غير القابل للصدأ، وتوضع هذه الصوانى فى حجرة تحضينٍ درجة حرارتها نحو ٢٨°م لمدة ٤٨ – ٥٠ ساعة، أو حتى يظهر النمو الميسليومى ويغطى الحبوب، ولكن يجب أن يتم ذلك قبل تكوين الجراثيم؛ حتى لا يفسد طعم المنتج النهائى.

وبعد تمام نمو الفطر وتجهيز مادة اللقاح (البادىء – الكوجى)، يتم خلطه بالملح وبذور فول الصويا السابق طهيها، ثم يفرم المخلوط، ويعبأ فى أوعيةٍ زجاجيةٍ (برطمانات) . وتحضن هذه الأوعية على حرارة ٢٨°م لمدة أسبوعٍ، ثم على حرارة ٣٥°م لمدة شهرين؛ وذلك لاستكمال تخمر بذور فول الصويا وإتمام التسوية. وقد تستكمل التسوية على درجة حرارة الغرفة لمدة أسبوعين.

وفى بعض الأحيان تتم بسترة المنتج النهائى بعد تمام التسوية؛ وذلك لوقف نشاط الإنزيمات الفطرية المحللة؛ مما يمنع زيادة التسوية وتكوين منتجٍ نهائىٍ فائق النضج، قليل القيمة الاقتصادية.

ويحتوى المنتج النهائى (الميزو) على حوالى ١٠٪ – ١٢٪ ملحا ، و١٣٪ – ٢٠٪ بروتيناً، و١٢٪ – ٣٠٪ كربوهيدرات. وهو من المنتجات الغذائية التى تجد قبولاً لدى المستهلك العربى؛ نظراً لحرافته العالية.

ويوضح شكل (٨٧) : خطوات صناعة أحد أنواع الميزو اليابانى:



شكل (٨٧) : خطوات صناعة الميزو شنشو اليابانى (Japanese shinshu miso).

وأثناء تجهيز اللقاح الأولى للفطر (الكوجى) المستعمل فى عملية التسوية يفرز الفطر إنزيمات الأميليز؛ التى تعمل على تحليل النشا إلى دكسترين ومالتوز وجلوكوز، كما يفرز الفطر إنزيمات تحليل البروتين وتحليل الدهون؛ ولذا فإن إضافة الكوجى إلى حبوب فول الصويا السابق تجهيزها هى بداية لعمليات التخمر والتسوية بالإنزيمات.

وفى مرحلةٍ تاليةٍ للتخمر الفطرى، تضاف بكتيريا حمض اللاكتيك ***Pediococcus soyae*** التى تستفيد من نواتج التحلل الإنزيمى الفطرى، بينما تنتج هى حمض اللاكتيك؛ بالإضافة إلى مركبات نكهة (منكهات)، وفى الوقت نفسه يتحلل كل من سكر الرافينوز والستاكيوز المسئولين عن حدوث الانتفاخات المعوية.

ويمكن صناعة بعض الأغذية المتخمرة من الأسماك؛ حيث نالت اهتمام الباحثين فى مجال علوم الأحياء الدقيقة (الميكروبيولوجى) فى دول غرب أوروبا، وخاصةً فى السنوات الأخيرة من هذا القرن؛ نظراً للقيمة الغذائية العالية لهذه الأغذية المتخمرة.

ولقد نظمت عديد من المراكز البحثية والعلمية فى هذه الدول دوراتٍ تدريبيةً وورش عملٍ للعاملين بالصناعات الغذائية؛ للتعرف على التقنيات الحديثة فى التصنيع، ودراسة العوامل المؤثرة فى العمليات الإنتاجية، وتطوير الكائنات الحية الدقيقة المستخدمة فى إنضاج هذه الأغذية؛ باتباع تقنية الهندسة الوراثية.

كما اهتمت هذه المراكز العلمية باستخدام سلالاتٍ نقية من الكائنات الدقيقة المعدلة وراثياً. ولقد واكب ذلك تطوير طرق التصنيع نفسها، واستخدام مواد خام غير تقليديةٍ. وأيضاً كان للإعلام دور واضح فى إبراز نتائج هذا التطور الكبير فى إنتاج الأغذية المتخمرة؛ وذلك من ناحية قيمتها الغذائية والصحية لدى جمهور المستهلكين.

ثالثاً : تصنيع الجبن:

بدأ الإنسان فى صناعة الجبن عندما عرف الزراعة واستأنس بعض الحيوانات التى استخدمها فى حمل الأشياء الثقيلة أو جر المحراث .. وفى ذلك الوقت عرف ذلك الإنسان البدائى اللبن المتجبن المأخوذ من مَعِدَات العجول الصغيرة.

ولقد نشأت صناعة الجبن فى الشرق الأوسط - مهد الحضارات القديمة - وانتقلت بعد ذلك إلى دول حوض البحر المتوسط، ثم انتشرت فى باقى أنحاء العالم عبر العصور المختلفة.

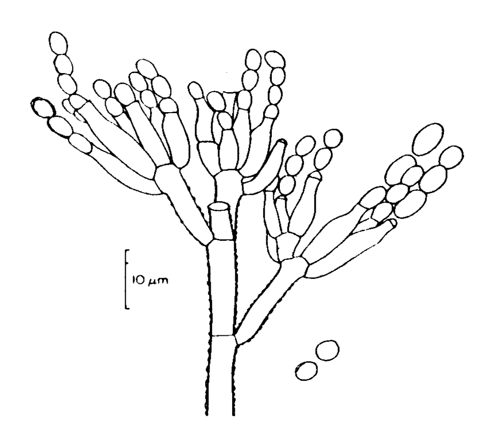
وتستخدم بعض الفطريات فى تسوية أنواعٍ مختلفةٍ من الجبن، سواء أكانت مسواةً تسويةً داخليةً؛ كما هى الحال فى تسوية الجبن الروكفور، أم مسواةً تسويةً سطحيةً؛ كما هى الحال فى تسوية الجبن الكممبرت.

١- الجبن المسوّى داخلياً:

لم يعرف الإنسان الجبن المُسَوَّى بالفطريات إلا فى بداية القرن العاشر الميلادى؛ ففى منطقة **Aveyron** بفرنسا أُنتج نوع من الجبن كان يُحَضَّن فى بعض المغارات ؛ ليكتسب طعماً مميزاً ؛ وذلك نتيجة نمو أحد الفطريات الخضراء اللون عليها بطريقةٍ طبيعية، وكان يطلق عليها اسم «الجبن الروكفور **Roquefort cheese**» .. ولم يعرف هذا النوع من الجبن - حينذاك - إلا فى تلك المنطقة.

وبعد ذلك بسنواتٍ طويلةٍ انتقلت صناعة هذا الجبن إلى المناطق المجاورة فى فرنسا، وإلى الدول الأخرى، وساعد على ذلك التعرف على نوع الفطر المسئول عن تسوية هذا النوع من الجبن؛ وهو الفطر ***Penicillium roquefortii***، والفطر ***P. expansum***.

ولقد عُرف هذا النوع من الجبن المنتج فى فرنسا باسم «الجبن الروكفور»، بينما عُرف فى الدول الأخرى المنتجة له بعدة أسماء مختلفة؛ مثل: «الجبن الأزرق **Blue cheese**»، أو «الجبن الأخضر **Green cheese**» ، أو «**Danablue**»، أو «**Niva**»أو «**Persille**» ، أو «**Márvány sajt**» .



شكل (٨٨) : الفطر *Penicillium roquefortii*. حامل كونيدى متفرع إلى فريعاتٍ متباعدةٍ، بينما الحامل الكونيدى الرئيسى ذو جدار خشن.

ولقد وجد الباحث **Boysen** وزملاؤه (١٩٩٦) أن الفطر المناسب لتسوية ذلك النوع من الجبن هو الفطر ***Penicillium roquefortii var. roquefortii*** ، فى حين أن السلالات الأخرى القريبة من هذا الفطر هى سلالات غير مناسبةٍ، ويُنْصَح بعدم استخدامها؛ نظراً لإنتاجها بعض السموم الفطرية.

فعلى سبيل المثال، أوضحت دراسات أخرى أن الفطر ***P. expansum*** الذى كان يستخدم فى بعض الدول لتسوية الجبن الأزرق يقوم بإنتاج المضاد الحيوى باتيولين

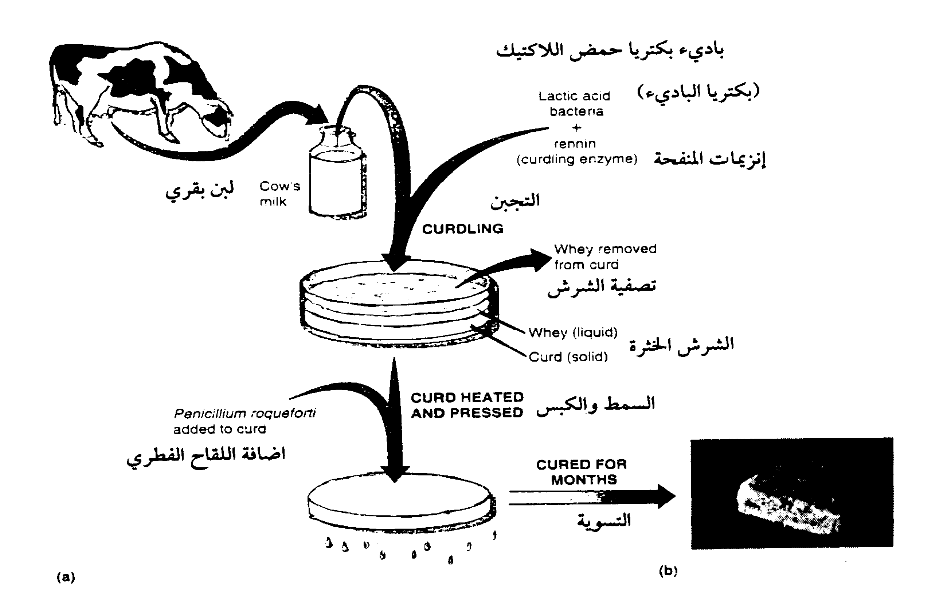
patulin – والذى يعرف باسم **expansin**، أو **penicidin** – وهو مثبط لنشاط البكتيريا والفطريات، ولكنه سام للنبات والحيوانات وأيضاً للإنسان. كما دلت الأبحاث على أنه مسرطن لفئران التجارب.

شكل (٨٩) : الفطر *Penicillium expansum* الذى يتميز بالحوامل الطويلة ذات التفرعات المتقاربة.

ويصنع هذا الجبن من لبن الأغنام الذى يحتوى على حوالى ٦,٥ ٪ دهناً، وقد يصنع من اللبن البقرى فى بعض الحالات. وتبدأ مراحل الصناعة ببسترة اللبن وتجنيسه، ثم يبرد إلى حوالى ٣٠ْم.

ويضاف لقاح من بكتيريا حمض اللاكتيك (بادىء)، غالباً ما يكون للبكتيريا *Streptococcus thermophilus* بنسبة ٠,٥ ٪، ويحضن لمدة ساعة على حرارة ٣٠ْم، ثم يضاف مستخلص المنفحة، ويُخلط هذا كله، ثم يستمر التحضين حتى يتجبن اللبن خلال نصف ساعة تقريباً.

وبعد تمام تجبن اللبن ، تقطع الخثرة المتكونة إلى مكعبات، ويستمر التحضين حتى تصل الحموضة فى الشرش إلى ٠,١١٪ - ٠,١٤٪ مقدرة كحمض لاكتيك؛ وذلك خلال ساعة من تجبن اللبن. وبعد ذلك يتم التخلص من الشرش الزائد، ورفع درجة الحرارة إلى ٣٣,٥م لمدة دقيقتين.



شكل (٩٠) : مراحل تصنيع الجبن الأزرق blue cheese المسوى بواسطة الفطر *Penicillium roquefortii*.

وتعبأ الخثرة – بعد ذلك – فى القوالب الخاصة بها مع خلطها بالملح الجاف ومسحوق فطر *P. roquefortii* بنسبة كيلو ملح واحد و ٣٠ جرام فطر لكل نصف طن خثرة. ويجب أن يكون ارتفاع الخثرة – بعد التعبئة مباشرة – قدر ارتفاعها مرةً ونصف بعد التخلص من الشرش؛ حيث يستغرق ذلك نحو أربعة أيام. ويراعى تقليب الخثرة أثناء الكبس ثلاث مراتٍ يومياً.

وبعد تمام انفصال الشرش، تنزع أقراص الجبن من القوالب، وتوضع على أرففٍ خشبيةٍ، وتحضن على درجة حرارة ١٥ْم لمدة أربعة أيام، تحت ظروف رطوبةٍ نسبيةٍ حوالى ٨٥٪، مع تغطية سطح أقراص الجبن بالملح.

وعندما تنتهى فترة التحضين، تنظف أسطح أقراص الجبن، وتثقب بمثقابٍ خاصٍّ؛ بحيث يكون عدد ثقوب كل قرصٍ حوالى ٥٠ ثقباً. وتنقل هذه الأقراص بعد ذلك إلى حجرة التسوية؛ حيث يتم تحضينها على حرارة ١٠ْم – ١٢ْم تحت ظروف رطوبة نسبية حوالى ٩٥٪.

ويتم تقليب وتنظيف أقراص الجبن كل أربعة أيام؛ وذلك لمدة عشرين يوماً. وفى هذه الأثناء تظهر النموات الفطرية للفطر *P. roquefortii* ؛ حيث تعتبر هذه المرحلة أولى مراحل التسوية.

وعندما يستكمل الفطر لنموه، تنظف أقراص الجبن، وتغلف برقائق الألومنيوم، ثم تنقل إلى حجرات التسوية – المرحلة الثانية – حيث تحضن على حرارة ٦ْم ـ٨ْم. وفى هذه المرحلة تتم تسوية الجبن بصورةٍ نهائيةٍ، ويستغرق ذلك حوالى ثلاثة شهورٍ.

وفى مرحلة التسوية النهائية، يَسْتكمل الفطرُ تحليلَهَ للبروتين والدهون والكربوهيدرات الموجودة فى الجبن، منتجاً مركبات النكهة المميزة لهذا الصنف من الجبن. وتنقل أقراص الجبن الناضجة بعد ذلك، وتخزن فى الثلاجات على درجة واحدة مئوية لحين توزيعها، وقد يعاد تغليف قطع الجبن بعد نضجه برقائق الألومنيوم أو بالبلاستيك.

ويعتبر هذا النوع من الجبن من الأنواع نصف الجافة التى يتم تسويتها داخليًا باستعمال الفطريات. ومن الأنواع الأخرى التى تتم تسويتها داخليًا باستعمال أنواع مختلفةٍ من الفطريات جبن الجورجونزولا **Gorgonzola**، والستلتون **Stilton**.

٢- الجبن المسوى سطحيًا:

هناك طريقة أخرى لتسوية بعض أنواع الجبن وذلك بطريقة سطحية؛ حيث ينمو الفطر المستخدم فى الإنضاج خارجيًا على سطح أقراص الجبن؛ مثال ذلك الجبن الكممبرت **Camembert cheese**؛ وهو أحد أنواع الأجبان الطرية.

ومن أنواع الجبن الأخرى المسوى سطحيًا: النيوشاتل **Newfchâtel**، والبراى **Brie**، والأوليفية أوفوان **Olivet aufoin**، وسان مارسيلان **Saint Marcellin**، والكولوميير **Coulommier**، وغير ذلك من أنواعٍ لاحصر لها.

ويرجع تصنيع هذا النوع من الجبن إلى منطقة كاممبرت التى تقع على بعد ٥٥ كيلو متراً جنوب شرق مدينة كان **Caen** بمقاطعة نورماندى **Normandie** بفرنسا. ويستعمل فى صناعة هذا الجبن لبنُ بقرىٌ مبستر (٧٢°م / ١٦ ثانية)، ثم يبرد بعد ذلك إلى درجة حرارة ٣٢°م.

ويضاف لقاح (بادىء) نشط من بكتيريا حمض اللاكتيك إلى اللبن الذى سبقت بسترته؛ وذلك لزيادة حموضته إلى ٠,٢٢٪ مقدرةٍ كحمض لاكتيك؛ وذلك فى حدود ١٥ - ٣٠ دقيقةٍ. وبعد ذلك يضاف مستخلص المنفحة بنسبة ١٠٠ ملليلتر منفحة عيارية لكل ٥٠٠ لتر لبن. وقد يضاف مع المنفحة لقاح من الفطر ***Penicilli-um candidum*** أو الفطر ***P.camemberti***، إلا أن الفطر الأول أكثر استخداماً.

وفى حالاتٍ أخرى، لاتتم إضافة اللقاح الفطرى مع المنفحة، ولكن يتم ذلك بعد

خروج أقراص الجبن من القوالب عند تمام تجبنها؛ حيث يرش اللقاح الفطرى على سطح قوالب الجبن.

ويتم التجبن - بصفة عامة - فى حدود ٤٥ دقيقة، ثم تقطع الخثرة إلى مكعبات، وتترك لمدة ١٥ دقيقة للتخلص من الشرش. وتُعبأ الخثرة بعد ذلك فى قوالب خاصة، وتحضن على ٢٢°م لمدة ثلاث ساعات. وفى اليوم التالى يستمر التحضين تحت نفس الظروف السابقة، مع تقليب الخثرة ٣-٤ مرات فى ذلك اليوم.

وبعد انتهاء هذه المرحلة، تنزع الأقراص من القوالب، وتُغمر فى محلول ملحى مشبع (تركيزه ٢٦٪)، أو ترش بملح جاف، وتترك لمدة ١-١,٥ ساعة، ثم ترص أقراص الجبن بعد ذلك على أرفف داخل حجرات التسوية (الإنضاج)، وتترك لمدة ١٠-١٢ يوماً على حرارة ١٢°م، ورطوبة نسبية ٩٥ - ٩٨٪.

ويبدأ ظهور النموات الفطرية للفطر ***P. candidum*** على سطح أقراص الجبن بعد حوالى خمسة أيام من إضافة اللقاح (البادىء)؛ حيث يراعى تقليب أقراص الجبن أربع مرات خلال وجودها على الأرفف فى حجرة التسوية.

وبعد استكمال تسوية أقراص الجبن، يتم تغليفها بورق بارافين، أو برقائق الألومنيوم المبطنة من الداخل بورق مشمع. وتحفظ أقراص الجبن الكممبرت - بعد ذلك - فى ثلاجات التخزين على حرارة ٤°م لحين توزيعها أو استهلاكها.

وتحتوى هذه الأنواع من الجبن الطرى - المسوى سطحياً باستعمال الفطريات - على أكثر من ٤٠٪ دهناً؛ لذا يلعب تحلل الدهون والبروتينات دوراً هاماً فى تحديد طعم الجبن. ويتم تحلل هذه المركبات بفعل إنزيمات الفطر المستخدم فى الإنضاج، والتى تؤثر على مكونات الجبن بعد إنتهاء مرحلة التسوية.

فعلى سبيل المثال، أوضح الباحثان **Molimard & Spinnler (1996)** أن الفطر ***P. candidum*** ينتج كميات كبيرة من إنزيم **lipase** ، وهذه الكميات تؤثر بصورة

أساسية على الجليسريدات التى تحتوى على أحماضٍ دهنيةٍ قصيرة السلسلة؛ وهى التى تسهم بصفةٍ رئيسيةٍ فى إظهار طعم الجبن الكممبرت، وخاصةً تلك الأحماض المحتوية على ٤-١٢ ذرة كربون.

وقد أظهرت الدراسة السابقة - أيضاً - أن مركبات ميثيل كيتون - التى تحتوى على ٣-١٥ ذرة كربون - هى من المكونات الأساسية لنكهة هذا النوع من الجبن؛ مثال ذلك **heptan -2- one** و **nonan - 2 - one**، و **undecan - 2- one**، وغيرها؛ حيث تنتج هذه المركبات نتيجة أكسدة الأحماض الدهنية فى الوضع «بيتا»، ثم نزع مجاميع الكربوكسيل. وقد يصاحب التحلل الإنزيمى الفطرى إنتاج بعض الأسترات الأخرى واللاكتونات.

وبالإضافة إلى ما سبق، فإنه ينتج عن تحلل البروتينات - بفعل إنزيمات الفطر المستخدم فى إنضاج جبن الكممبرت - أحماض أمينية، وأحماض كيتونية، وألدهيدات، وكحولات، علاوة على بعض المركبات الكبريتية مثل **dimethyl disul-phide**.

وعلى أية حالٍ، فإن نواتج تحليل مكونات الجبن بفعل الإنزيمات الفطرية يتوقف على ظروف الإنتاج والتسوية؛ بحيث أن اختلاف هذه الظروف وعدم المتابعة الجيدة قد يؤديان إلى إنتاج منتجٍ منخفض الجودة وغير مأمونٍ على صحة المستهلكين.

ولقد اهتم بعض الباحثين فى مصر (فكرى ١٩٨٧) بمحاولة إنتاج الجبن الكممبرت من اللبن الجاموسى، ولقد تم ذلك بنجاح، إلا أن المستهلك المصرى لم يُقْبل على استهلاك الجبن التام النضج، وفضل عليه الجبن نصف الناضج. أما الجبن الأزرق (الروكفور)، فلقد اهتم عديد من الباحثين فى مصر بإنتاجه محلياً، ونجحوا فى ذلك إلى حدٍ بعيدٍ؛ حيث لاقى المنتج المحلى قبولاً لدى جمهور المستهلكين.

رابعاً : إنتاج الخمائر ومشتقاتها:

يعتبر استخدام الخمائر فى صناعة الخبـز والمشـروبات الكحوليـة وفـى إنتـاج بعض الأغذيـة المتخمـرة من الاسـتخدامات التقليديـة الـتى انتشـرت فـى كثـيرٍ مـن الحضـارات الإنسـانية القديمة، ومـازالت تسـتخدم حتى الآن فـى شـتى أنحاء العـالم.

ولقد تنوع استخدام فطريات الخميرة فى صناعة الأغذية تنوعاً كبيراً؛ حيث تستخدم حالياً فى تحسين طعم ونكهة عديدٍ من الأطعمة، وأيضاً فى رفع قيمتها الغذائية. ومع بداية سيتنيات هذا القرن، اتجه العالم إلى إنتاج البروتينات من الكائنات الحية الدقيقة مثل الخمائر، فيما عـرف باسـم «البروتين الميكروبى **single cell protein (SCP)**».

وعند مقارنة هذا البروتين الميكروبى بما يمكن إنتاجه من بروتيناتٍ نباتيةٍ أو حيوانيةٍ تقليديةٍ، فإننا نجد أن الإنتاج الميكروبى أكثر وفرة، سواء بالنسبة إلى وحدة المساحة المستخدمة فى الإنتاج، أم بالنسبة إلى المواد المغذية، أم الوقت اللازم لتضاعف الكتلة الحيوية.

فعلى سبيل المثال، عند استخدام مساحة هكتار لرعى الأبقار، فإن كمية البروتين الجاف الناتج سنوياً تقدر بحوالى ١٨ كيلو جرام، ويرتفع هذا الرقم إلى ٦٧٥ كيلو جرام إذا كانت هذه المساحة مزرعةً سمكيةً، بينما يقفز هذا الرقم إلى ٦٥ طناً من البروتين الجاف إذا استغلت هذه المساحة فى زراعة عيش الغراب؛ كأحد أنواع البروتين الميكروبى.

ويختلف معدل إنتاج البروتين الميكروبى عن معدل إنتاج البروتين الحيوانى التقليدى؛ ففى الوقت الذى تحتاج فيه العجول الصغيرة إلى وقتٍ يتراوح بين شهرين وأربعة شهورٍ لكى تتضاعف كتلتها الحيوية، تحتاج نباتات فول الصويا إلى ١٠–١٢ أسبوعاً، ولاتحتاج خلايا الخميرة إلا لعدة ساعات (٢–٤ ساعات)، لكى تتضاعف كتلتها الحيوية.

وعلاوة على ما سبق، فإن المواد التى تستخدم لإنماء الخميرة أو لزراعة عيش الغراب هى مواد يمكن اعتبارها متخلفاتٍ عن العمليات الزراعية أو مراحل التصنيع الغذائى؛ أى إنها مواد غير مكلفة. وبالمقارنة، نجد أن إنتاج البروتين الميكروبى لايحتاج إلى أعلافٍ ولا أسـمدةٍ ولا أرضٍ خصبـة، ولا تكاليف إضـافية... إنه هبة مـن اللـه ـ سبحانه وتعالى ـ وعلينا نحن حسن استغلالها.

ولقد تنبه الألمان إلى أهمية البروتين الميكروبى خلال الحربين العالمية الأولى والعالمية الثانية، وذلك عندما واجهوا نقصاً فى الغذاء؛ حيث عملوا على زراعة خميرة الخباز ***Saccharomyces cerevisiae*** وخميرة التوريولا **torula yeast (*Torulopsis utilis*)**؛ وذلك على نطاقٍ واسع للاستعمال المباشر كغذاءٍ؛ كما استخدم ذلك البروتين لحل مشكلة الجوع ونقص البروتين فى كثيرٍ من دول العالم الثالث، سواء كغذاءٍ آدمىٍ بطريقةٍ مباشرةٍ، أم كعلفٍ للحيوانات والطيور والأسماك لإنتاج لحمٍ تقليدىٍ بتكاليف محدودة.

ثم اتجه العالم حالياً إلى استخدام الفطريات فى حل مشاكل البيئة، وإعادة تدوير المخلفات العضوية والاستفادة منها فى إنتاج غذاءٍ غير تقليدىٍّ؛ مثل إنتاج فطريات عيش الغراب التى تتميز بسرعة نموها واحتوائها على نسبةٍ عاليةٍ من البروتين، يمكن الاعتماد عليه فى التغذية كبديلٍ للحوم، وخاصة إذا عزّ وجودها.

وكذلك الحال فى فطريات الخمائر، التى اتجه العالم إلى الاستفادة منها كإضافاتٍ غذائيةٍ لعديدٍ من المنتجات منذ سنواتٍ طويلةٍ مضت، وخاصةً أنها غنية فى

بعض الأحماض الأمينية الأساسية مثل الليسين، وأيضاً فى محتواها من الفيتامينات (خاصةً مجموعة فيتامينات B).

ولكن يعيب الخميرة محتواها العالى من الأحماض النووية **nucleic acids**، وخاصةً الحمض النووى الريبوزى **RNA**؛ نظراً لارتفاع معدل انقسامها. وتصل نسبة الأحماض النووية فى الخمائر إلى نحو ٦–١٥٪، بينما لاتزيد فى اللحوم الحمراء على ٢٪. وخلال التمثيل الغذائى لهذه الأحماض النووية فى جسم الإنسان، تتحول قواعد البيورين إلى حمض يوريك **uric acid**، يقوم الجسم بالتخلص منه خلال البول.

وعندما يتغذى الإنسان على كمياتٍ كبيرةٍ من الخميرة ذات المحتوى العالى من الأحماض النووية الريبوزية، فإن الجسم لايستطيع التخلص من تلك الكميات الهائلة من حمض اليوريك الناتجة عن التمثيل الغذائى؛ وذلك يؤدى إلى ترسيب أملاح هذا الحمض فى المفاصل؛ مسبباً نوعاً من الالتهاب؛ يعرف باسم «مرض النقرس **gout**».

ليس هذا فقط، بل إن أملاح اليورات التى تتكون بكثرةٍ فى هذه الحالة تتبلور فى البول؛ مكونة حصواتٍ صغيرةً تتكون فى حوض الكلى، ثم تتحرك مع حركة البول إلى الحالب؛ مسببةً آلاماً مبرحةً، وقد تتجمع فى المثانة، ويستمر تبلورها حتى تتكون حصوات كبيرة الحجم لدرجةٍ يصعب تصديقها.

ويعتبر المستوى المأمون من كمية الأحماض النووية التى يحصل عليها الإنسان فى غذائه نحو جرامين يومياً؛ وهو معدل منخفض إذا اعتمد الإنسان على الخميرة كمصدرٍ للبروتين؛ وذلك لأنه سوف يصل إلى هذا المعدل عندما يحصل على سدس احتياجاته الضرورية من البروتين.

وعلى أية حالٍ، فإن الله – سبحانه وتعالى – قد وهب الإنسان إنزيماً محللاً لحمض اليوريك؛ وهو إنزيم **uricase**؛ والذى يعمل على أكسدة هذا الحمض، ويحوله إلى مركب الأنتوين **allantoin** الذى يتخلص منه الجسم بسهولة.

لذا يجب مراعاة معاملة خلايا الخميرة المستخدمة فى تجهيز الأغذية، أو كإضافات لعلف الحيوانات؛ وذلك لخفض نسبة الأحماض النووية بها. ومن هذه المعاملات ما يسمى بالصدمة الحرارية **heat shock**، والتى يمكن من خلالها خفض نسبة تلك الأحماض النووية من ٧-٩٪ إلى ١-٢٪، وبالتالى تقل خطورتها على صحة الإنسان أو الحيوان.

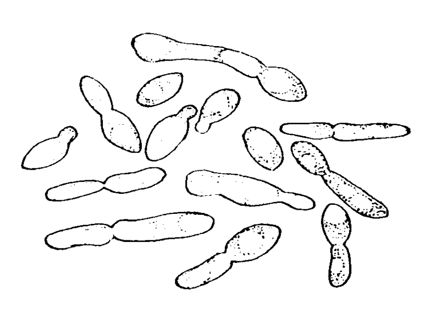
وهناك عديد من أنواع الخمائر التى استعلمت فى تغذية الإنسان؛ مثل ***Candida utilis*** ، و ***Kluyveromyces marxianus*** ، و ***Saccharomyce cerevisiae*** بالإضافة إلى كثير من أنواع الخميرة التابعة للأجناس : ***Torulopsis*** ، و ***Candida*** ، و ***Kloe-kera*** ، و ***Hansenula***، و ***Pichia*** ، و ***Trichosporon***.

وفى بعض الأحيان يمكن استخدام مزارع مختلطة من عديد من الفطريات، وخاصةً عند استخدام مخلفات سيليلوزية أو لجنوسيليلوزية. وفى مثل هذه الحالات، يمكن تنمية أحد الفطريات المحللة لمثل هذه المخلفات؛ مثل : الفطر ***Phanaerochaeta chrysosporium*** – وهو أحد الفطريات التابعة لفطريات عيش الغراب – مع أحد أنواع الخمائر.

وفى المثال السابق، يقوم الفطر ***P. chrysosporium*** بتحليل المخلفات السيليلوزية واللجنوسيليلوزية إلى مواد سكرية بسيطة، تنمو عليها الخميرة مكونةً كتلةً حيويةً **bio-mass** من خلاياها المتبرعمة، ومنتجةً بعض نواتج التمثيل الغذائى الأولى والثانوى، والتى يمكن الاستفادة منها.

ولقد اهتمت كثير من الدراسات بإنماء الفطريات على مثل هذه المخلفات الصعبة التحلل، وإنتاج بروتين أمكن استخدامه كعلفٍ للحيوان؛ مثال ذلك نوى البلح (النواوى – ١٩٩٣). وفى بحثٍ آخر **(Sukan & Yasin, 1986)** أمكن تنمية الفطر ***Trichoderma viride*** والفطر ***Geotrichum candidum*** على قشور البرتقال؛ حيث احتوى المنتج النهائى على نحو ٢٠٪ بروتينا خامـًا.

أما بالنسبة إلى إنتاج فطريات الخمائر ومشتقاتها واستخدامها فى التصنيع الغذائى، فإنه يستخدم – عادةً – فطر الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*. وتتم تنمية هذه الخميرة على بعض مخلفات التصنيع الغذائى؛ مثل المولاس، والشرش، وراشح اللبن، أو على بعض الكحولات؛ مثل : الميثانول، والإيثانول، أو على اللاكتات أو أية مركباتٍ سكريةٍ يمكن أن ينمو الفطر عليها.



شكل (٩١) : فطر الخميرة *Kloekera apiculata* بعد ثلاثة أيام من نموها فى بيئة مستلخص المولت السائلة.

وتُنتج الخميرة فى صورةٍ نشطةٍ **active yeast**، أو فى صورةٍ غير نشطةٍ **inactive yeast**. وتستخدم الخميرة النشطة فى عمليات التخمر، أو كمصدرٍ لمركبات الطعم والنكهة، أو فى النواحى التغذوية. أما الخميرة غير النشطة، فتستخدم فقط فى النواحى التغذوية، وكمواد مالئةٍ، أو كمركبات نكهة (منكهات).

١ – الخمائر النشطة active yeasts :

أ – خميرة الخباز Baker's yeast :

- يصل الإنتاج العالمى من خميرة الخباز إلى ما يزيد على مليونى طنٍ سنوياً، وهى

موجودة فى عدة صورٍ؛ منها المضغوطة **compressed yeast**، والجافة النشطة **active dry yeast**، والجافة اللحظية **instant active dry yeast**. وتختلف هذه الصور بعضها عن بعضٍ فى درجة النشاط، ومدى الثبات.

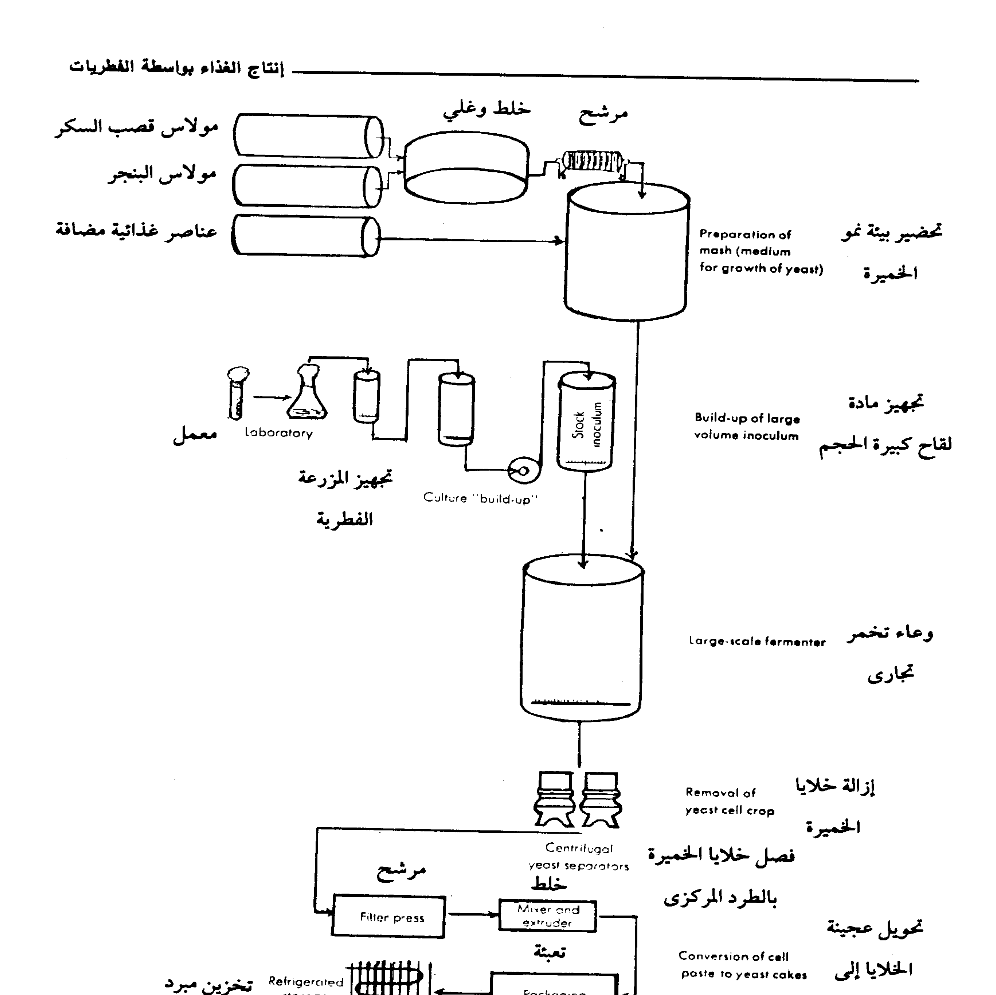
ويتم إنتاج خميرة الخباز بتلقيح السلالة النقية المنتجة فى دوارق تحتوى على البيئة المناسبة، والتى تتكون - غالباً - من خليط من مولاس القصب والبنجر كمصدرٍ للكربون، بالإضافة إلى مصدرٍ نتروجينيّ، ومعادن، وفيتامينات، وغير ذلك من عوامل النمو الأخرى.

وتحضن دوارق النمو على حرارة ٣٠°م لمدة ٢٤ ساعة، ثم ينقل محتوى الدوارق السابقة إلى دوارق أخرى أكبر حجماً، ثم إلى وعاء تخمر سعة ١٠ لترات، وبعد ذلك إلى وعاء تخمر أكبر ... وهكذا، حتى نصل إلى وعاء التخمر التجارى الذى تصل سعته إلى ١٠٠ ألف لترٍ - ٢٠٠ ألف لتر، تحت درجة الحرارة السابقة ذاتها.

ويراعى خلال تنمية الخميرة تحت الظروف السابقة ضبط رقم حموضة التنمية، والتهوية. ويفضل اتباع طريقة التنمية على دفعاتٍ متزايدةٍ، أو التنمية المستمرة عند إنتاج خميرة الخباز تجارياً.

وتستغرق عملية الإنتاج نحو ١٠-٢٠ ساعة حتى الوصول إلى تركيز ٣,٥-٥٪ خلايا جافة. ويجب التحكم فى تركيز مصدر الكربون فى حدود ٠,٠١٪؛ وذلك لتجنب حدوث تخمرٍ كحوليّ، والذى يطلق عليه «تأثير كرابترى **Crabtree effect**».

كما يجب التحكم فى عملية التنفس الهوائى للخميرة النامية فى بيئة الإنتاج؛ حيث إن أفضل معدل نموٍّ خلويّ يكون عند زيادة معدل نمو المواد الصلبة الخلوية بنسبة ٢٥٪ فى الساعة. وتؤدى زيادة هذه النسبة إلى خفض إنتاج الكتلة الحيوية **bio-mass** للخميرة.



شكل (٩٢) : مراحل الإنتاج التجارى لخميرة الخباز.

وعندما يصل تركيز خلايا الخميرة فى بيئة النمو إلى ٣,٥-٥٪ مادةً جافةً، يتم تركيز الخلايا بالطرد المركزى، ثم تغسل للتخلص من آثار بيئة النمو، وللتأكد من خلوها من مصدر الكربون المستخدم؛ حيث يطلق على هذا الناتج اسم «قشدة الخميرة yeast cream» . وتحتوى قشدة الخميرة على نحو ١٨٪ مادة صلبة؛ حيث يتم تبريدها إلى ٢ْم-٤ْم، ثم ترشح تحت تفريغٍ، وبعد ذلك تحفظ على صفرْم لحين استكمال تصنيعها.

ويمكن تصنيع قشدة الخميرة السابق تجهيزها إلى أيٍّ من المنتجات التالية:

*** الخميرة المضغوطة compressed yeast:**

يتم تصنيع الخميرة المضغوطة عن طريق خلط قشدة الخميرة بمادةٍ مستحلبةٍ أو أكثر. ويتم بثق extruded المخلوط، وتقطيعه إلى قوالب بأحجامٍ مختلفةٍ، أو تفتت فى صورة مكعباتٍ صغيرةٍ (١ × ٥-١٠ ملليمتر)، ثم تعبأ فى عبوات سعة العبوة ١-٢٥ كيلو جرام.

ومن أهم عيوب الخميرة المضغوطة أنها سريعة الفساد؛ حيث لاتتجاوز فترة تخزينها على حرارة ٢ْم-٧ْم حوالى ٤-٥ أسابيع، بينما إذا تركت على درجة حرارة الغرفة فإنها تفقد نشاطها خلال ساعاتٍ قليلةٍ.

وعلى الرغم من ذلك، فإن الخميرة المضغوطة من أكثر صور الخميرة المستعملة فى الصناعة، ويرجع ذلك إلى سهولة استخدامها، ولكن يجب مراعاة استهلاكها بسرعةٍ فى وقتٍ لايتجاوز نصف الساعة بعد خروجها من ثلاجة التخزين.

*** الخميرة الجافة النشطة active dry yeast:**

تخلط قشدة الخميرة مع إحدى مواد الاستحلاب المناسبة، ومعظمها من الأسترات ومضادات الأكسدة، ثم يتم تجفيف المخلوط على حرارة ٢٥ْم-٤٥ْم لمدة ٦ ساعاتٍ فى مجفف سيور مستمر **continuous belt dryer**.

ويتميز المنتج النهائى من الخميرة الجافة النشطة بلونه الذهبى، ومحتواه القليل من الرطوبة (٧,٥ - ٨,٣٪)، وثباته على درجة حرارة الغرفة لمدة حوالى ثلاثة شهورٍ فى وجود تهويةٍ كافيةٍ. وفى بعض الأحيان يتم حفظ هذه الخميرة فى جوٍّ نتروجينيٍّ أو تحت تفريغ؛ حيث تزداد فترة الحفظ إلى حوالى عام. ويمكن تعبئة هذا المنتج فى أكياسٍ من رقائق الألومنيوم أو عبواتٍ زجاجيةٍ أو معدنيةٍ.

وعند استخدام ذلك النوع من الخميرة، يجب استرجاعه فى ماءٍ دافىءٍ (٤٣°م) لمدة ٥-١٠ دقائق.

*** الخميرة الجافة النشطة لحظيًّا instant active dry yeast:**

يتم إعداد هذا النوع من الخميرة باستعمال سلالاتٍ من خمائر تتحمل الجفاف؛ حيث يتم تصنيعها بنفس طريقة تصنيع الخميرة الجافة النشطة، مع اختلافٍ وحيدٍ فى طريقة التجفيف.

ويستعمل لتجفيف هذا النوع من الخميرة مجفف الطبقة الهائمة **fluid bed dryer**. وفى هذه الطريقة يتم دفع هواءٍ ساخنٍ درجة حرارته ٦٥°م - ٨٠°م فوق طبقة قشدة الخميرة المراد تجفيفها. ونظراً لارتفاع رطوبة قشدة الخميرة، فإن درجة حرارتها لاترتفع عن ٣٨°م. ويستمر دفع الهواء الساخن حتى يتبخر معظم الماء فى قشدة الخميرة، وتصل نسبة الرطوبة بها فى النهاية إلى حوالى ٥٪.

وعندما تجف خلايا الخميرة، فإنها تتجمع فى حبيبات صغيرة الحجم، تكون منخفضة الكثافة وذات مسطحٍ كبيرٍ. وعلى ذلك، فإنه يسهل استرجاعها، ولا تحتاج إلى إذابة قبل استخدامها فى التصنيع. وعادةً ما يتم خلط هذه الخميرة الجافة النشطة لحظيًّا مع المكونات الجافة المستخدمة فى التصنيع الغذائى.

ويعيب هذا النوع من الخميرة الجافة سرعة امتصاصها للرطوبة، وحساسيتها للأكسوجين؛ لذا تجب تعبئتها فى عبواتٍ مفرغةٍ هوائيًّا، أو فى وجود غاز النيتروجين.

ب- خميرة البيرة Brewers yeast:

تشمل خميرة البيرة نوعين من الخمائر التابعة للجنس *Saccharomyces*، النوع الأول *S. cerevisiae* الذى يستخدم فى إنتاج نوع البيرة **Ale**؛ حيث تنمو خلايا هذه الخميرة وتتجمع سطحياً؛ مسببةً تخمراً سطحياً لبيئة التنمية **top fermentation**. وتنمو هذه الخميرة على حرارة ٢٠ْم لفترة ٢-٦ أيام، ولايمكنها تخمير سكر المليبيوز **melibiose**.

أما النوع الثانى *S.carlsbergensis* (يسمى حالياً *S. uvarum*)، فيستخدم فى إنتاج نوع البيرة **Lager**؛ حيث تنمو الخلايا وتتجمع عند قاع وعاء التخمير. وينمو هذا النوع من الخميرة على حرارة ١٠ْم - ١٥ْم لمدة ٨-١٠ أيام، كما يمكنها تخمير سكر المليبيوز.

وتصنع خميرة البيرة باستخدام مستخلص حبوب الشعير المستنبتة (المولت)؛ حيث تتم تنميتها فى دوارق صغيرة الحجم، وتحضن لفترةٍ حتى تستكمل نموها، ثم تنقل إلى دوارق أكبر حجماً... وهكذا لعدة مراتٍ متتاليةٍ، تنتهى عند وعاء التخمر الصناعى.

وتختلف السلالات المستخدمة فى إنتاج خميرة البيرة من شركةٍ إلى أخرى. وعندما يصل الإنتاج إلى مرحلته النهائية يتم تعليق خلايا الخميرة فى محلول حمض فوسفوريك مع بير سلفات لحماية المنتج النهائى من التلوث البكتيرى، ويحفظ فى الثلاجة على حرارة صفرْم.

وبعد صناعة خميرة البيرة، تتبقى بعض الخلايا التى يمكن الاستفادة منها فى صناعة مستخلص الخميرة، حيث تستعمل كمواد منكهةٍ، أو يتم تجفيفها واستخدامها فى تجهيز علائق الحيوانات.

جـ- خمائر المشروبات الكحولية المقطرة

yeasts for distelled bevarage:

تختار سلالات خميرة تمتاز بتحملها لارتفاع نسبة الكحول فى البيئة، والتى تصل

إلى نحو ١٨٪–٢٠٪ كحول إيثانول. كما تتميز هذه السلالات بإنتاجها لمواد منكهة.

ومن أهم الأنواع المستخدمة فى صناعة المشروبات الكحولية المقطرة، سلالات من خمائر ***Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus*** أو ***S. beticus*** أو ***S. bayanus***. ويمكن إنتاج مثل هذه الخمائر فى صورة خميرةٍ مضغوطةٍ أو مجففةٍ نشطةٍ تشبه فى ذلك خميرة الخباز.

٢- الخمائر غير النشطة inactive yeasts :

تعتبر هذه الخمائر أحد الأنواع التى سبقت الإشارة إليها بعد بسترتها؛ حيث تفقد حيويتها، وتستعمل كمواد مضافة للأغذية؛ بغرض تحسين طعمها ونكهتها، ورفع قيمتها الغذائية.

٣- مستخلص الخميرة yeast extract :

يتخلف عن صناعة البيرة كميات كبيرة من خلايا الخميرة المستعملة فى التخمر، والتى يطلق عليها اسم «الكتلة الحيوية **biomass**». فعلى سبيل المثال، يتخلف عن صناعة كل برميل بيرة حوالى ٢٠٠ جرامٍ من خلايا الخميرة الطازجة النشطة.

وعلى ذلك، تعتبر صناعة البيرة مصدراً جيداً لخلايا الخميرة دون أية تكاليف إضافية؛ حيث تعتبر منتجاً ثانوياً مأموناً صحياً. ويتم الحصول على خلايا الخميرة بصورةٍ نشطةٍ، ثم يتم تحليلها – بطرقٍ مختلفةٍ – لإنتاج مستخلص الخميرة **yeast extract**.

ويستخدم مستخلص الخميرة فى عديد من الصناعات الغذائية؛ مثل منتجات اللحوم، أو الشوربات، أو الجبن المطبوخ، أو منتجات المخابز، أو الخضروات أو المأكولات البحرية، وغير ذلك من أنواع الأغذية الأخرى التى يصعب حصرها.

ويعتبر مستخلص الخميرا مصدراً جيداً لعديد من الأحماض الأمينية والببتيدات

والفيتامينات والمعادن؛ حيث يستخدم فى تغذية الأطفال والبالغين، وكذلك فى تجهيز علف الحيوانات. ولكن يراعى استخدام مستخلص الخميرة فى المنتج الغذائى بنسبة لاتزيد على ٠,١ – ٠,٥٪؛ وذلك نظراً لأن التركيزات الأعلى من ذلك تعطى طعماً متخمراً.

ويستهلك من مستخلص الخميرة سنوياً نحو ٣٥ ألف طنٍ، يبلغ ثمنها حوالى ١٩٠ مليون دولار، ويتم تجهيز مستخلص الخميرة بإحدى الطرق التالية:

أ- التحلل الذاتي autolysis:

يتم ذلك عن طريق تنشيط إنزيمات التحلل الذاتى بخلايا الخميرة، والتى تعمل على تحليل مكوناتها على درجة حرارة معينةٍ ورقم حموضةٍ معينٍ، وذلك فى نهاية طور ثبات النمو وبداية طور انهيار الخلايا وموتها.

وتستخدم النسبة بين الأحماض الأمينية الحرة وتركيز البروتين كمؤشرٍ للتحكم فى درجة تحلل الخلايا؛ حيث إن كمية ونوع الأحماض الأمينية الحرة هى العامل الأساسى المباشر وغير المباشر فى التأثير على نكهة الغذاء.

ويتميز مستخلص الخميرة الناتج بطريقة التحلل الذاتى للخلايا باحتوائه على حمض الجلوتاميك فى صورة ببتيداتٍ، وليس فى صورةٍ حرةٍ (جلوتامات أحادى الصوديوم)، على العكس من البروتينات النباتية المتحللة – مثل بروتينات فول الصويا أو القمح – فإنها تحتوى على حمض الجلوتاميك فى صورةٍ حرةٍ؛ نتيجة التحلل الحامضى، والذى يؤثر على نكهة الأطعمة المضاف إليها.

ب- التحلل البلازمي (البلزمة) plasmolysis:

تتبع هذه الطريق لإنتاج مستخلص الخميرة فى عديدٍ من دول أوروبا، بينما لايتم استخدامها فى الولايات المتحدة. وفى هذه الطريقة يضاف تركيز عالٍ من ملح الطعام (كلوريد الصوديوم) إلى خلايا الخميرة؛ مما يؤدى إلى فقد نسبةٍ عاليةٍ من الماء

الداخلى، فتتبلزم الخلية وتموت، وعندئذ تبدأ عملية التحلل الذاتى لها.

وتتميز هذه الطريقة بسهولة إجرائها، وعدم احتياجها إلى أجهزة خاصة ولا إمكانات مكلفة؛ فهى تعتمد على كميات من ملح الطعام تتوفر فى كل مكان وبسعر منخفض. ولكن يعيب هذه الطريقة ارتفاع ملوحة مستخلص الخميرة الناتج؛ مما يمنع استخدامه فى إعداد المنتجات الغذائية المنخفضة الملوحة.

جـ- التحلل المائي hydrolysis:

وهى أكثر الطرق كفاءة فى إنتاج مستخلص الخميرة تجارياً؛ حيث يستخدم حمض الهيدروكلوريك على حرارة ١٠٠°م لمدة ٦-١٢ ساعة، أو على حرارة أعلى من ذلك - تحت ضغط - ولوقت أقصر.

وبعد انتهاء المعاملة السابقة، يعادل حمض الهيدروكلوريك المستخدم بواسطة أيدروكسيد الصوديوم؛ وذلك للوصول إلى رقم حموضة ٥-٦، ثم يتم ترشيح المحلول لفصل خلايا الخميرة؛ حيث يتم تركيزها وتجفيفها باستعمال طريقة الرذاذ؛ ويتم ـ بعد ذلك ـ الحصول على مسحوق جاف لاتزيد نسبة الرطوبة فيه على ٥٪.

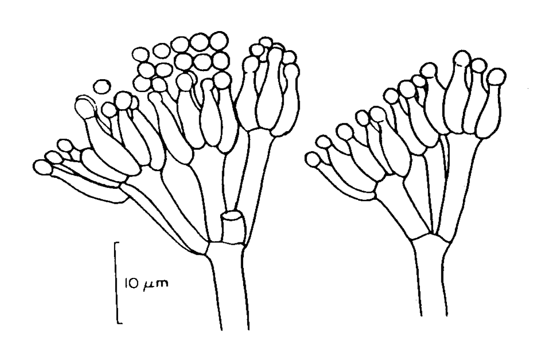
وبصفة عامة يفضل استخدام مستخلص الخميرة فى مجال التصنيع الغذائى عن استخدام جلوتامات الصوديوم، وعن القواعد النووية (النيوكليوتيدات)؛ نظراً لأن مستخلص الخميرة مأمون صحيًا بصورة أفضل من المواد الأخرى.

وعلى أية حال، تستخدم جلوتامات الصوديوم والنيوكليوتيدات **5`-nucleotides** كمحسنات للطعم. ويمكن إنتاج مستخلصات ذات تركيزات عالية من النيوكليوتيدات ٥- جوانوزين أحادى الفوسفات **5`- guanosine monophos-phate (5`- GMP)** و ٥- إينوزين أحادى الفوسفات **5`- inosine monophosphate (5`- IMP)**.

ويتم استخلاص الأحماض النووية الريبوزية **RNA** من الخلايا بتسخين المعلق

الخلوى على درجة حرارة ٩٠–١٠٠°م لمدة ١–٣ ساعات، ثم يضاف إنزيم ٥– فوسفو داى إستريز phosphodiestrase -`5؛ الذى يعمل على تحليل الأحماض النووية الريبوزية وانفراد الجوانوزين – ٥ فوسفات، والاينوزين – ٥ فوسفات.

وينتج إنزيم ٥– فوسفو داى إستريز من الفطر ***Penicillium citrinum***، وعند التحضين مع هذا الإنزيم تنتج نيوكليوتيدات أخرى؛ مثل اليوراسيل الأحادى الفوسفات، والأدينوزين الأحادى الفوسفات، والسيتوزين الأحادى الفوسفات.



شكل (٩٣) : الفطر *Penicillium citrinum*. رءوس كونيدية conidial heads متفرعة إلى فريعات قليلة أو كثيرة.

والأدينوزين الأحادى الفوسفات ليس من مركبات النكهة، ولكن يتم تحويله إلى أينوزين أحادى الفوسفات عن طريق إنزيم **adenylic deaminase**. ويتميز المستخلص ذو المحتوى المعدل من النيوكليوتيدات بأن له طعماً مقبولاً ونكهة جيدة، كما أنه مأمون صحياً، بالإضافة إلى زيادة تأثيره المتعاون مع جلوتامات الصوديوم.

ويحتوى مستخلص الخميرة العادى على ٥٠٪–٦٠٪ بروتيناً، و١٠٪–٢٠٪ رماداً، و ١٥٪–٢٧٪ كربوهيدرات، و ٠,١ – ٠,٣٪ دهوناً فى المتوسط، بينما ترتفع

نسبة البروتين فى مستخلص الخميرة المنخفض الصوديوم إلى نحو ٧٠٪، ويستخدم مستخلص الخميرة فى التصنيع الدوائى كمصدرٍ للفيتامينات ولبعض المعادن الهامة؛ مثل : الكروم، والزنك، والسلينيوم.

خامساً : إنتاج عيش الغراب:

تعتبر فطريات عيش الغراب مصدراً لغذاء الإنسان منذ بداية عهده على سطح الأرض. وكم تغذت الحيوانات العشبية على ثمار هذه الفطريات النامية بين الأعشاب، بل إن بعض الحيوانات تبحث عن هذه الثمار المغذية الشهية، وتختارها بعناية؛ وتجدُّ فى طلبها؛ ومثال ذلك: القوارض ، والحشرات.

ولقد عرف الرومان واليونانيون القدماء فطريات عيش الغراب بأنواعها المختلفة، وتعرفوا على الأنواع غير المأكولة والسامة **toadstools**، وأقبلوا على جمع الأنواع الأخرى المأكولة **mushrooms** التى استطابوا طعمها. ونظراً لقلة ما كان متاحاً منها، فلقد استأثر بها الأغنياء والنبلاء دون بقية أفراد الشعب.

وشملت الأنواع المأكولة من عيش الغراب الكمأة **truffles**، والمورشيلات **morels**، والكرات النافخة **puffbals**، والفطريات المرجانية **coral fungi**، بالإضافة إلى الفطريات الجيلاتينية والفطريات الثقبية؛ مثل أنواع البوليتس ***Boletus***.

وتعتبر ثمار الكمأة أغلى أنواع الفطريات المأكولة؛ حيث تجمع من أماكن انتشارها بواسطة الكلاب أو الخنازير المدربة؛ التى تهتدى إلى الثمار المدفونة تحت سطح الأرض عن طريق رائحتها العطرية الجميلة، وخاصة أنواع الكمأة القريبة من سطح الأرض. وتنمو الكمأة على جذور النباتات فى علاقة تبادل منفعة، يطلق عليها اسم «الميكوريزا الخارجية **ectomycorrhiza**» .

وتنتشر بعض أنواع الكمأة فى تربة الغابات، ويطلق عليها اسم «كمأة الغابات»،

بينما هناك أنواع أخرى تنتشر فى الصحراء، وتعرف بكمأة الصحراء. وتنتشر كمأة الصحراء فى الساحل الشمالى بمصر، وأيضاً فى عديد من الدول العربية الأخرى؛ مثل المملكة العربية السعودية، والكويت، والعراق، وسوريا، وفى بعض دول المغرب العربى.

١- القيمة الغذائية لفطريات عيش الغراب:

استخدم الإنسان البدائى ثمار عيش الغراب فى غذائه منذ فجر التاريخ؛ لأنه كان نباتياً بالدرجة الأولى. وكان شكل الثمار ثم طعمها هما العاملين الأساسيين الذين اعتمد عليهما الإنسان فى إقباله على طعام ما أو نفوره منه. وبعد عدد لانهائى من التجارب، وجد هذا الإنسان - ومن معه من عشيرته - فى ثمار عيش الغراب مصدراً جيداً وميسوراً من الغذاء الشهى.

وتحتوى ثمار عيش الغراب على حوالى ٩٠٪ من وزنها ماءً، بينما تتقاسم المكونات الصلبة نحو ١٠٪ فقط من وزنها. وينخفض محتوى هذه الثمار من الطاقة؛ حيث يحتوى كل ١٠٠ جرام ثمار طازجة على حوالى ٢٥ كيلو كالورى فقط.

ويمكن مناقشة القيمة الغذائية لثمار عيش الغراب على ضوء أهم محتوياتها الغذائية، وبمقارنتها بغيرها من الأغذية الأخرى التى يعتمد عليها الإنسان فى حياته، وذلك من ناحية محتواها من الكربوهيدرات والبروتينات والدهون والأملاح المعدنية والفيتامينات؛ بالإضافة إلى الألياف والإنزيمات الهاضمة.

أ- الكربوهيدرات:

يحتاج جسم الإنسان إلى كمية كبيرة من الطاقة، يستنفذها فى الأنشطة الطبيعية التى يقوم بها، وفى الوظائف الفسيولوجية لأعضاء جسمه، وأيضاً للحفاظ على درجة حرارة الجسم ثابتةً، وخاصةً فى الفصول الباردة.

وتمد الموادُّ الكربوهيدراتية الجسم بكمية من الطاقة تقدر بأكثر من نصف الكمية

التى يولدها الجسم، بينما تلعب الدهون دوراً أقل فى إمداد الجسم بما يحتاج إليه من الطاقة اللازمة.

ومعظم الكربوهيدرات الموجودة فى ثمار عيش الغراب عبارة عن مانيتول، بينما تتفاوت محتوياتها من السكريات الأحادية والثنائية؛ مثل الجلوكوز، والفركتوز، والسكروز. ويحتوى كل ١٠٠ جرام وزناً طازجاً من ثمار عيش الغراب على ٤,٥ جرام كربوهيدرات، بينما يحتوى الكرنب على ٤,٨ جراماً، والطماطم على ٤,- جرامات، والبطاطس على ٢١,- جراماً، بينما تقل كمية الكربوهيدرات فى الإسبرجس إلى ٢,٧ جراماً، وفى السبانخ إلى جرام واحد.

ب- البروتينات:

تلعب البروتينات دوراً هاماً فى بناء أنسجة الجسم المختلفة وتعويض التالف منها، وكذلك فى بناء الأجسام المضادة، والهرمونات اللازمة للنمو، والإنزيمات اللازمة للعمليات الحيوية المختلفة.

وتتوقف القيمة الحيوية للبروتينات على احتوائها على الأحماض الأمينية الأساسية التى يمكن لجسم الإنسان بناؤها بنفسه؛ وبالتالى يؤدى نقصها إلى اختلال التوازن البروتينى فى الجسم.

ويبلغ عدد الأحماض الأمينية الأساسية اللازمة لنمو الإنسان عشرة أحماض؛ هى : الليوسين، والأيزوليوسين، والليسين، والمثيونين، والسيستين، والفينيل الانين، والتيروسين، والثريونين، والتربتوفان، والفالين.

ويطلق على البروتينات التى تحتوى على جميع الأحماض الأمينية الأساسية اسم «البروتينات الكاملة» ؛ مثل بروتينات عيش الغراب، بينما يطلق اسم «البروتينات الناقصة» على بروتينات الأغذية النباتية؛ مثل البقوليات. وتؤدى التغذية المستمرة على البروتينات الناقصة ـ دون الكاملة ـ إلى اختلال عمليات التحول الحيوى فى جسم الإنسان؛ مما يسبب عدم نمو الجسم نمواً طبيعياً.

ويمكن مقارنة محتوى ثمار عيش الغراب من البروتينات الكلية بغيره من الخضروات واللحوم، مع الأخذ فى الحسبان عدم توفر جميع الأحماض الأمينية الأساسية فى بروتينات الخضروات.

فعلى سبيل المثال، يحتوى كل ١٠٠ جرام من ثمار عيش الغراب على حوالى ٥ جرامات بروتين، بينما يقل هذا المحتوى فى الفول الأخضر إلى ٢,٢ جراماً، والبطاطس إلى ١,٨ جراماً، والكرنب إلى ١,٤ جراماً، بينما يزداد فى اللحم البقرى إلى ١٩,٢ جراماً، وفى الدجاج إلى ١٢,٦ جراماً، وفى السمك إلى ٩,٢ جراماً.

وعلى ذلك يمكن اعتبار ثمار عيش الغراب ذات محتوى بروتينّي يتوسط الخضروات واللحوم، فلا عجب أن يطلق عليها الأوربيون اسم «اللحم النباتى **vegeta-ble beef**»، ويخلطوها بالخضروات؛ لرفع نسبة البروتين الكامل فى الوجبة الغذائية، وإضافة نكهة شهية إلى الوجبة الغذائية.

جدول (٢٣) : مقارنة القيمة الغذائية لثمار عيش الغراب ببعض الأغذية النباتية والحيوانية.

دليل الأحماض الأمينية الأساسية Essential amino acids index		دليل الأحماض الأمينية Amino acids scores		الدليل الغذائى Nutrition index	
لحم الدجاج – لحم بقرى	١٠٠	لحم الدجاج	٩٨	لحم الدجاج	٥٩
اللبن	٩٩	اللبن	٩١	لحم بقرى	٤٣
عيش الغراب	٩٨	عيش الغراب	٨٩	فول الصويا	٣١
البطاطس – البسلة	٩١	كرنب	٦٣	عيش الغراب	٢٨
الذرة	٨٨	بطاطس	٥٩	لبن	٢٥
الخيار	٨٦	فول	٥٣	بسلة	٢١
الفول السودانى	٧٩	ذرة	٥٠	فول	٢٠
فول الصويا	٧٦	بسلة	٤٦	كرنب	١٧

جـ- الدهون:

تعتبر الدهون المصدر الثاني الأساسي للطاقة في جسم الإنسان، إلا أنها تعطي كميةً من الطاقة ضعف ما تنتجه المواد الكربوهيدراتية. ويمكن للجسم تخزين كمياتٍ كبيرةٍ من الدهون تعمل كاحتياطي للطاقة، ولكن زيادتها على الحد المسموح به يهدد الجسم بأخطار السمنة ومشاكلها الصحية.

وثمار عيش الغراب فقيره في محتواها من الدهون؛ حيث لاتتجاوز نسبة الدهون في عيش الغراب ١ ٪. والدهون الموجودة في ثمار عيش الغراب عبارة عن إستيرولات؛ وأحماض دهنية غير مشبعةٍ، ولا تشكل خطورةً على صحة الإنسان.

وعند مقارنة الدهون الموجودة في ثمار عيش الغراب بالدهون الحيوانية، نجد أن الأخيرة تحتوي على أحماضٍ دهنيةٍ مشبعةٍ، تسبب زيادةً في كوليسترول الدم؛ مما يترتب عليه مشاكل صحية لاحصر لها.

وتعمل زيادة الدهون الحيوانية (خاصة الكوليسترول) في جسم الإنسان على تراكمها تحت الجلد، وداخل تجويف البطن، وحول الكلى، ويترسب جزء من هذه الدهون على جدر الشرايين، فيقلل من مرونتها، وتتصلب (مرض تصلب الشرايين)، كما يسبب ذلك ارتفاع ضغط الدم، وما يتبعه من أمراضٍ عديدةٍ أخرى.

ويعتبر انخفاض محتوى الدهون في ثمار عيش الغراب من المميزات الغذائية التي تجعله مصدراً بروتينياً خالياً من الدهون، كما أن الدهون الموجودة فيه تحتوي على ستيرولات، وهي تعمل على إعاقة تمثيل الكوليسترول الضار بصحة الإنسان. وأيضاً يتحول الأرجسترول الموجود في ثمار عيش الغراب إلى فيتامين D في الجسم خلال تعرض الإنسان لأشعة الشمس.

ونظراً لانخفاض مستوى الدهون في ثمار عيش الغراب، فإنها تعتبر أحد الأغذية المنخفضة الطاقة - دايت Diet - والتي يهتم بها محبو الرشاقة، ومتبعو الأنظمة الخاصة في التغذية (الرجيم).

د- الأملاح المعدنية:

تعتبر ثمار عيش الغراب مصدراً هاماً للأملاح المعدنية؛ مثل : البوتاسيوم، والفوسفور، والحديد، والنحاس، بينما محتواها من الكالسيوم قليل. وعلى ذلك فإن التغذية على ثمار عيش الغراب تؤدى إلى تنشيط العمليات الحيوية فى جسم الإنسان، وتحسن فى الدورة الدموية، كما يساعد الحديد على بناء هيموجلوبين الدم.

ويصل محتوى ثمار عيش الغراب من الأملاح المعدنية إلى حوالى جرامٍ واحدٍ لكل ١٠٠ جرامٍ وزناً طازجاً، بينما تقل هذه الكمية فى الأسبرجس إلى ٠,٦ جراماً، وفى اللبن إلى ٠,٧ جراماً، وفى اللحم البقرى إلى ٠,٥ جراماً فقط.

هـ- الفيتامينات:

يحتاج جسم الإنسان إلى الفيتامينات بكمياتٍ قليلةٍ لتنظيم التمثيل الغذائى. وحيث إن الجسم لايستطيع تخزين بعضها، فإنه يجب الحصول عليها بصورةٍ مستمرةٍ ودائمةٍ من الأغذية التى تحتوى عليها.

ونظراً للمحتوى العالى من الماء فى ثمار عيش الغراب (حوالى ٩٠ ٪)، والمحتوى المنخفض من الدهون (حوالى ١ ٪)، فإن الفيتامينات الموجودة فى ثمار عيش الغراب هى تلك التى تذوب فى الماء؛ مثل مجموعة فيتامين **B** ومنها حمض النيكوتينيك **nicotenic acid**، والريبوفلافين **riboflavin**، وحمض البانتوثنيك **panto-thenic acid**، بالإضافة إلى كمياتٍ بسيطةٍ من حمض الفوليك **folic acid**، والكولين **colin**، والبيوتين **biotin**، وأيضاً فيتامين **C**.

ولاتوجد فى ثمار عيش الغراب الفيتامينات التى تذوب فى الدهون؛ وهى فيتامينات : **K, E, D, A**، إلا أن هذه الفيتامينات يمكن للجسم الاحتفاظ بها واختزانها فى دهون الجسم لحين الحاجة إليها، ولا تفقد عن طريق البول، كما هى الحال فى الفيتامينات التى تذوب فى الماء.

و - الألياف :

تكاد تخلو ثمار عيش الغراب من الألياف غير القابلة للهضم؛ وذلك بعكس الحال فى معظم الخضروات الأخرى التى تتبقى منها نسبة من الألياف التى لاتهضم؛ فعلى سبيل المثال يحتوى كل ١٠٠ جرام من الطماطم الطازجة على حوالى جرامَىْ ألياف، بينما تصل هذه الكمية إلى ٢٠ جراماً فى الجزر.

ز - الإنزيمات الهاضمة :

تتميز ثمار عيش الغراب باحتوائها على إنزيم التربسين **trypsin** الذى يساعد على الهضم، والذى يفرز فى الجسم عن طريق البنكرياس. ويساعد هذا الإنزيم على هضم البروتينات؛ مما يجعل من تناول وجبة تحتوى على بعض ثمار عيش الغراب غذاءً سهل الهضم.

٢- القيمة الطبية لفطريات عيش الغراب :

زاد الاهتمام العالمى بفطريات عيش الغراب ذات الاستخدامات العلاجية منذ اكتشاف المضادات الحيوية كالبنسلين. ومع مرور الوقت، ظهرت عديد من المضادات الحيوية ذات التأثيرات المثبطة أو القاتلة لعديدٍ من الكائنات الحية الدقيقة الضارة بصحة الإنسان؛ مثل البكتيريا والفطريات والبروتوزوا.

كما أوضح البحث العلمى أن بعض المواد الفعالة المستخلصة من أنواعٍ معينة من فطريات عيش الغراب البرية تؤثر على الخلايا السرطانية، ويمكنها علاج بعض حالات أمراض السرطان فى الإنسان.

وفى عام ١٩٣٠ أظهرت بعض الدراسات التى أجريت فى ألمانيا قدرة بعض نواتج تخمر أنواعٍ معينةٍ من ثمار فطريات عيش الغراب - مثل تلك الأنواع التابعة للأجناس *Agaricus*، و *Merulius*، و *Phallus* - على تضاد النموات السرطانية.

وبعد ذلك بنحو عشرين عاماً، وجد أن المستخلص المائى لفطر عيش غراب

البوليتس ***Boletus edulis*** له تأثير مثبط على نمو الأورام الخبيثة التى تظهر فى الأنسجة الضامة فى فئران التجارب البيضاء. وفى عام ١٩٥٩ عزل الباحث **Lucus** وزملاؤه مادة الكالفاسين **calvacin** من ثمار فطر عيش الغراب الكرات النافخة ***Calva-tia gigantea***، ووجدوا أن لهذه المادة تأثيراً مثبطاً على نمو الأورام الخبيثة **Sarcoma 180** فى الفئران البيضاء.

ومنذ ذلك الحين، اهتمت عديد من الدول الأخرى؛ مثل اليابان والولايات المتحدة وغيرهما بهذا التأثير التضادى على نطاق واسع، ثم انضمت الصين إلى هذا الفريق البحثى بعد ذلك. ولقد أظهرت نتائج الأبحاث أن المادة الفعالة التى تثبط نمو الأورام الخبيثة عبارة عن سكرٍ معقدٍ ناتجٍ عن فطرٍ بازيديٍّ **basidiomycetous poly-saccharide**.

وباستكمال هذه الأبحاث العلمية، وجد أن هذه السكريات الفطرية المعقدة تعمل على زيادة مقاومة جسم المريض ضد نمو الأورام؛ وذلك بتشجيعها لتكوين المواد المضادة للفيروس **interferon**، كما تعمل على قتل الخلايا المتورمة دون الأخرى السليمة.

وفى المؤتمر السنوى اليابانى لأبحاث السرطان **The Japanese Cancer Re-search Conference**؛ الذى انعقد فى مدينة سانداى **Sendai** عام ١٩٧٤، تمت مناقشة آلية فعل السكريات المعقدة البروتينية **proteinous polysaccharides** الناتجة من فطر عيش الغراب الرفى ***Coriolus versicolor***؛ الذى ينمو على جذوع الأشجار ذات الخشب الصلد.

ولقد اعتبرت هذه السكريات المعقدة من العوامل المساعدة على تثبيط نمو الأورام الخبيثة فى حيوانات التجارب. ويرجع ذلك – فى المقام الأول – إلى تثبيط انتقال العامل المسبب للسرطان من مقره الأساسى إلى أجزاء الجسم الأخرى السليمة؛ وذلك عبر العقد الليمفاوية.

وفى هذا المجال، اشتركت عديد من المعاهد البحثية والهيئات العلمية الأخرى فى

إجراء مزيدٍ من الأبحاث على أنواعٍ مختلفةٍ من فطريات عيش الغراب البرية الأخرى ذات التأثيرات العلاجية؛ مثال ذلك فطر عيش الغراب ذو الثقوب ***Polyporus umbellatus***.

ومع مرور الوقت واستمرار هذه الأبحاث، تم اكتشاف حوالى ٦٠ نوعاً من فطريات عيش الغراب ذات التأثير المثبط على نمو الخلايا السرطانية. ولقد وجد أن بعض هذه الفطريات يستخدم فعلاً كغذاءٍ صحّيٍ مفيدٍ فى دول شرق آسيا؛ مثال ذلك فطر عيش غراب الشيتاكى **Shii-Taki *(Lentinus edodus)***؛ حيث يعتبر هذا الفطر غذاءً ودواءً فى وقتٍ واحدٍ؛ لذا يطلق عليه اسم «الغذاء الصحى المتكامل **wholesome food**».

وهناك أنواع أخرى من فطريات عيش الغراب تستعمل فى الطب الشعبى لعلاج أمراضٍ متنوعةٍ؛ مثال ذلك استخدام ثمار فطر عيش غراب العسل ***Armillaria tabescens*** فى الصين لعلاج التهاب المرارة، ومرض التهاب الكبد الحاد والمزمن؛ نظراً لاحتواء هذا الفطر على مادة **armillarisia A,B**.

وتعمل بعض فطريات عيش الغراب المأكولة على خفض كوليسترول الدم؛ وأهم هذه الفطريات: فطر عيش غراب الشيتاكى، وفطر عيش الغراب العادى، وفطر عيش غراب آذان الشجر ***Auricularia polytricha***.

وبالإضافة إلى ما سبق، توجد أنواع أخرى من فطريات عيش الغراب البرية غير المأكولة ــ مثل فطر عيش الغراب الرفى ذى الثقوب ***Pyropolyporus fomentarius***- تحتوى على مواد فعالةٍ تخفض من نسبة الكوليسترول فى الدم.

ومن ناحيةٍ أخرى، أظهرت الدراسات العلمية الحديثة أن الجرعات الصغيرة من بعض فطريات عيش الغراب السامة ــ مثل فطر عيش غراب الذبابة ***Amanita muscaria*** ــ لها تأثير مهدىء للأعصاب، وتساعد على النوم الهادىء.

وفى دراساتٍ أخرى، وجد أن الفطر ***Ioncybe fastigiata*** — وهو أحد فطريات عيش الغراب السامة — يعالج بعض الأمراض الجلدية ؛ مثل الإكزيما **eczemia**. كما وجد ـ أيضاً ـ أن بعض فطريات عيش الغراب البرية تنتج حمضاً عضوياً هو **eburicoic acid**؛ الذى يمكن استعماله فى تخليق بعض الأستيرولات الطبية، كما هى الحال فى فطريات عيش الغراب الثقبية؛ مثل ***Poria cocos***، و ***Fomitopsis officinalis***، بالإضافة إلى أحد أنواع فطر عيش غراب الشيتاكى ***Lentinus lepideus***.

ولقد وجد ـ مؤخراً ـ أن بعض فطريات عيش الغراب تنتج مضاداتٍ حيويةٍ؛ مثال ذلك فطر عيش غراب السحاب ***Agaricus nebularis***؛ الذى ينتج المضاد الحيوى **ne-bularin**؛ الذى يضاد الميكوبلازما، بالإضافة إلى تأثيره الفعال ضد الخلايا السرطانية.

كما وجد بعض الباحثين أن مستخلص ثمار فطر عيش غراب الشيتاكى يحتوى على مواد مضادة لفيروس الإنفلونزا **A/SW15**؛ حيث يظهر تأثيرها عن طريق حث الجسم على تكوين مواد مضادة للفيروس **interferon**. وقد يؤدى الحمض النووى الريبوزى **RNA** الموجود فى مستخلص ثمار فطر عيش غراب الشيتاكى إلى حث جسم الإنسان على تكوين هذه الأجسام المضادة.

ومن أحدث الأبحاث الطبية العلاجية فى هذا المجال ما ذكره **W. Wright** فى كتابة الصادر عام ١٩٩٢ عن قدرة بعض فطريات عيش الغراب على مقاومة بعض أمراض السرطان **anticarcinogenic effect**، وحماية الجسم من فقد مناعته الطبيعية (الإيدز **AIDS**) **Acquired immunodeficiency Syndrome**.

ولا يثير دهشتنا اكتشاف مزيدٍ من فطريات عيش الغراب — سواء المأكولة أم غير المأكولة — ذات التأثيرات العلاجية لبعض الأمراض الخطيرة للإنسان، وخاصةً تلك التى لم يكتشف لها علاجاً ناجحاً حتى اليوم.

٣- تاريخ زراعة عيش الغراب:

تعود زراعة عيش الغراب إلى ثلاثة قرونٍ خلت، حين اكتشف الفرنسيون كيفية زراعة عيش الغراب على الكومبوست الناتج من تخمر بعض المخلفات الزراعية؛ وذلك بمدينة باريس؛ حيث تمت بنجاحٍ زراعة فطر عيش الغراب العادى من الجنس *Agaricus*.

ولقد تلا ذلك محاولات أخرى ناجحة، لعل أكثرها شهرةً ما حققه الفرنسى **La Quintinie** عام ١٦٧٠ بزراعة فطر عيش الغراب العادى فى الحديقة الملكية للملك لويس السادس عشر، وبعد ذلك بنحو ثمانى سنواتٍ نجح **Madhaut** فى زراعة عيش الغراب العادى على روث الخيل المتحلل.

وكان أول وصفٍ علميّ لطريقة زراعة عيش الغراب هو ما قام به العالم الفرنسى **Tournefort** عام ١٧٠٧؛ حيث اتبع طريقة تغطية الكومبوست بالتربة فيما يسمى بطبقة التغطية، ومازالت هذه الطريقة متبعة حتى الآن فى زراعة عيش الغراب مع بعض التعديلات البسيطة.

وفى عام ١٧٥٤ وصف العالم السويدى **Lundberg** الشروط الواجب مراعاتها عند زراعة عيش الغراب فى المناطق المفتوحة، بينما وصف **Chombry** عام ١٨١٠ طريقة زراعة عيش الغراب العادى فى المناجم الموجودة تحت سطح الأرض. وأمكن الحصول على أول محصولٍ تجاريّ من عيش الغراب العادى تمت زراعته داخل كهوفٍ فى هولاندا عام ١٨٢٥.

ولقد تأخر دخول الولايات المتحدة فى زراعة عيش الغراب العادى إلى عام ١٨٦٥، لكنهم ابتكروا طريقةً لزراعة عيش الغراب داخل الصوبات الزراعية.

أما بالنسبة إلى إنتاج تقاوى لسلالاتٍ تجاريةٍ من عيش الغراب، فلقد تم ذلك فى فرنسا لأول مرةٍ عام ١٨٩٤، وطور الأمريكان ذلك عام ١٩٠٥؛ وذلك عن

طريق الباحث Duggar؛ الذى لجأ إلى طريقة مزارع الأنسجة؛ للحصول على نمواتٍ فطريةٍ من نسيج ثمرة عيش الغراب، دون أن تتغير صفات السلالة.

واستمر احتكار الفرنسيين لأسرار صناعة التقاوى بطريقةٍ تجاريةٍ حتى بداية القرن الحالى، ولكن فى عام ١٩٣١ استطاعت وزارة الزراعة الأمريكية إنتاج ميسليوم فطريٍّ يستعمل كتقاوٍ، ثم طورت زراعة عيش الغراب على أرفف - بعد ذلك - بثلاث سنوات؛ مما ضاعف من إنتاج الثمار.

وفى عام ١٩٥٥ أدخل الفرنسيون الميكنة فى زراعة عيش الغراب؛ مما ساعد على إنشاء المزارع التجارية الضخمة مع تقليل تكاليف الإنتاج؛ ومازال الفرنسيون يحتفظون بالسبق فى هذا المجال، حتى أُطلق عليهم بحقٍّ «رواد زراعة عيش الغراب فى العالم».

٤- أهمية زراعة عيش الغراب فى دول العالم الثالث:

يتزايد تعداد سكان العالم - خاصةً فى دول العالم الثالث - زيادةً كبيرةً؛ فالوسائل الطبية الحديثة قد خفضت معدل الوفيات كثيراً، كما أطالت حياة الإنسان مدةً لابأس بها، وأصبح الأطفال الذين يبلغون سن الرشد - الآن - أكثر بكثيرٍ من ذى قبل.

وهؤلاء الأطفال يتزوجون عندما يبلغون سن الرشد، وينجبون أولاداً أكثر، حتى واجهت العالم اليوم مشكلة خطيرة، وهى إطعام هذه البلايين المتزايدة من البشر؛ فإذا لم نتمكن من تنظيم هذه الزيادة الرهيبة فى أعداد السكان، فلا مناص من توفير الطعام الكافى لهم، وإلا هلكوا جوعاً.

وتؤدى زيادة السكان إلى تلوث البيئة بجميع عواملها، بدايةً من تراكم المخلفات إلى الضجيج؛ وهذا يزيد من مسئوليات الحكومات تجاه البيئة، وأيضاً نحو رعايها من السكان.

ومن المعروف أن نحو ثلثى العالم يعيشون على طعامٍ ناقصٍ فى قيمته الغذائية - وخاصةً البروتين - ولقد أدى ذلك إلى اعتماد السكان على الأغذية النباتية فى

طعامهم، حتى أصبحوا نباتيين إجباراً؛ وذلك نظراً لارتفاع أسعار المصادر الطبيعية للبروتينات، بما لا يقدر عليه هؤلاء.

ولقد أدركت كثير من المنظمات العالمية المهتمة بالصحة والتغذية والسكان ذلك، حيث أوضحت أهمية الاعتماد على مصادر غير تقليدية لتغذية شعوب العالم الثالث، وعلى رأس هذه المواد المغذية مصادر بروتينية من الأحياء الدقيقة، تعرف باسم «البروتين الميكروبى»، كما هى الحال فى فطريات عيش الغراب.

وفى نفس الوقت تتراكم أطنان لاحصر لها من المخلفات العضوية فى دول العالم الثالث دون استخدام؛ وهى ثروة قومية على أية حالٍ إذا أحسن استغلالها فيما يفيد.

وحيث إن زراعة عيش الغراب تتم على مثل هذه المخلفات العضوية، بحيث يمكن إنتاج كيلو جرام من ثمار عيش الغراب من كل كيلوجرامين من هذه المخلفات الجافة، فإنه يمكن تخيل كمية الإنتاج القومى من عيش الغراب التى يمكن إنتاجها دون تكاليف كبيرةٍ أو تقنيةٍ عالية.

ولعل هذه العجالة توضح أهمية زراعة عيش الغراب فى دول العالم الثالث، مستفيدةً من المخلفات العضوية التى قد تلوث البيئة، ومحولةً إياها إلى علفٍ غير تقليدىٍّ يصلح لتربية حيوانات اللحم، ومنتجةً لثمار عيش الغراب ذات القيمة الغذائية العالية، وموفرة فرص عملٍ لا حصر لها.

جدول (٢٤) : كمية المخلفات الزراعية فى العالم (عام ١٩٨٩)

نوع المخلف الزراعى	كمية المخلفات (بالألف طن)
قش المحاصيل النجيلية (قمح – أرز – ذرة)	٢,٩٤٦,٠٤٠
مخلفات المحاصيل البقولية (فول – بسلة – فول صويا)	١٦٦,١٧٨
مخلفات المحاصيل الزيتية (فول سودانى – عباد الشمس – سمسم)	١٤١,٦٧٤
مخلفات محاصيل أخرى (بن – قصب سكر – قطن)	٥٤٨,٠٢٦

٥- زراعة عيش الغراب العادى:

يعتبر عيش الغراب العادى **common (button) mushroom** أكثر أنواع عيش الغراب المنزرعة تجاريًا شهرةً وانتشاراً؛ حيث تتميز ثماره بالقبعات البيضاء ذات الشكل الكروى، وهى تتفتح عند نضجها، وإن كان ذلك غير مرغوب تجاريًا؛ لذا يعمد المزارعون إلى قطف الثمار وهى مازالت مقفولة فى طور النمو الزرارى **button stage**.

والثمار فى هذه المرحلة تكون كرويةً متماسكةً، قابلةً للتخزين فترةً طويلةً تحت ظروف التبريد (٢°م-٤°م)، كما أنها تتحمل التعليب دون أن تتفكك أنسجتها، حتى لو كانت هذه الثمار مقطعةً إلى شرائح. وتتميز الثمار المقفولة بأن جراثيمها فاتحة اللون؛ وبالتالى تجد قبولاً لدى المستهلك بالمقارنة بالثمار المتفتحة ذات الجراثيم السوداء.

وهناك أنواع تجارية عديدة تابعة للجنس ***Agaricus***، تختلف فيما بينها فى حجم الثمرة، ولونها، وملمسها، وقابليتها للتخزين، ومقاومتها للأمراض، وسرعة إثمارها، وكمية المحصول، وغير ذلك من صفاتٍ تجاريةٍ عديدةٍ. ومن أهم الأنواع التجارية التابعة لهذا الجنس الفطران ***A. bisporus***، و ***A. campestris***.



شكل (٩٤) : الأجسام الثمرية لفطر عيش الغراب العادى فى مراحل نضج مختلفة.

جدول (٢٥) : أهم فطريات عيش الغراب التجارية المزروعة وإنتاجها السنوى.

مسلسل	الأسم التجارى	الأسم العلمى	الإنتاج السنوى بالألف طن
١-	عيش الغراب العادى	***Agaricus bisporus, A. bitorquis***	١٠٢٢
٢-	عيش غراب الشيتاكى	***Lentinus edodes***	٢٣٤
٣-	عيش غراب القش	***Volvariella volvacea***	٦٥
٤-	عيش غراب الشتاء	***Flammulina velutipes***	٦٠
٥-	عيش الغراب المحارى	***Pleurotus spp.***	٤٠
٦-	عيش غراب آذان الشجر	***Auricularia auricula - juda***	٤٢
٧-	عيش الغراب ذو القبعية البنية	***Stropharia rugosa - annulata***	١,١
٨-	عيش غراب اللحية الشعثاء	***Coprinus comatus***	٠,٧
٩-	أصناف أخرى من عيش الغراب		٢٣,٢
	إجمالى الإنتاج العالمى		١٤٨٨

أ- تجهيز الكومبوست:

يعتبر الكومبوست الجيد هو العامل المحدد لنجاح زراعة عيش الغراب العادى والحصول على محصولٍ جيدٍ منه. ويمكن لمزارع عيش الغراب تجهيز الكومبوست بنفسه؛ وذلك باستخدام المواد الأولية المتاحة بتكاليف محدودةٍ، ولكن يجب الإلمام الجيد بمراحل تجهيز الكومبوست وبسترته.

ويستعمل - عادةً - روث الخيل المخلوط بالقش المستعمل فى فرش الإسطبلات فى تجهيز الكومبوست اللازم لزراعة هذا الفطر؛ حيث يعتبر هذا الكومبوست نموذجياً لاحتوائه على جميع العناصر الغذائية اللازمة لنمو هيفات الفطر؛ والذى يطلق عليه اسم الكومبوست الطبيعى **natural compost**.

وعند وصول روث الخيل المخلوط بالقش إلى المزرعة، يكوّم هذا المخلوط تحت مكانٍ مسقوفٍ، ويرش بالماء إذا كان جافـًّـا، ويترك لمدة حوالى أربعة أيامٍ حتى تنشط الأحياء الدقيقة الموجودة، وتقلب الكومة، ويعاد تكويمها؛ بحيث يكون ارتفاعها وعرضها نحو متر ونصف المتر، بينما يختلف طولها تبعاً لكمية الكومبوست.

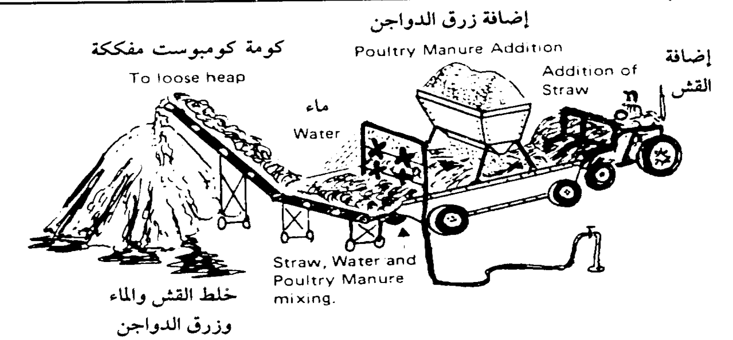


شكل (٩٥) : جمع القش المخلوط بروث الخيل وترطيبه

وتقلب الكومة السابقة بعد حوالى ثلاثة أيامٍ؛ حيث تبلل بالماء، ويضاف الجبس الزراعى بمعدل ٢٥ كيلو جراماً للطن. كما يجب رش الكومة بمطهرٍ حشريٍّ للقضاء على الذباب والحشرات الأخرى التى تتجمع عليه.

ويتم تقليب الكومة عادة يدويـًّـا إذا كانت كميتها صغيرةً، ولكن فى حالة الكميات الكبيرة يتم التقليب آليـًّـا باستعمال ماكينة التقليب والخلط **mixing machine** (شكل٩٦) والتى ترطب القش فى نفس الوقت. ويلاحظ أن الكومبوست المخلوط آليـًّـا يكون أكثر تجانساً وجودةً من ذلك الذى يتم خلطه يدوياً.

وفى حالاتٍ كثيرةٍ لايتوافر روث الخيل بكمياتٍ مناسبةٍ لتجهيز الكومبوست الطبيعى، لذلك يمكن استخدام مواد أخرى لتجهيز الكومبوست؛ مثل زرق الدواجن، أو الأسمدة النيتروجينية؛ حيث يطلق على هذا الكومبوست اسم «الكومبوست الصناعى **synthetic compost**».



شكل (٩٦) : ماكينة خلط مكونات الكومبوست المستعمل فى زراعة عيش الغراب العادى باستعمال زرق الدواجن

وتجب إضافة الجبس الزراعى بمعدل ٥٪ إلى الكومبوست خلال تجهيزه؛ حيث يعمل ذلك على تحسين قوام الكومبوست ويمنع لزوجته، كما يحتفظ برقم الحموضة قريب من التعادل. وتزداد الكمية المضافة من الجبس الزراعى فى حالة استعمال زرق الدواجن فى تجهيز الكومبوست؛ حيث يعمل على تحويل حمض الأكساليك الناتج عن تخمر المادة الصلبة للكومبوست إلى ملح أكسالات كالسيوم.

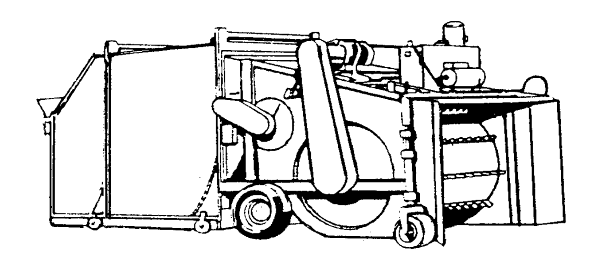
وفى حالة استعمال كبريتات الأمونيوم كمصدرٍ للنيتروجين بدلاً من زرق الدواجن وروث الخيل، تجب إضافة كميةٍ من الجير (كربونات كالسيوم) بمعدل حوالى ١٥–٢٠ كيلو جرام لكل طنٍّ كومبوست؛ وذلك بغرض معادلة حمض الكبريتيك الناتج عن تحلل كبريتات الأمونيوم.

وعلى ذلك تعتمد المرحلة الأولى من تجهيز الكومبوست (**phase I**) على تخمر المواد الصلبة المستعملة فى الزراعة بالاعتماد على الأحياء الدقيقة (تخمر مواد صلبة **composting**)؛ حيث تتم هذه المرحلة – عادةً – فى مكانٍ مسقوفٍ لحماية الكومبوست من أشعة الشمس المباشرة وسقوط الأمطار.

والهدف الرئيسى من تخمر المواد العضوية هو إعداد كومبوستٍ جيدٍ؛ يُسَهّل لهيفات فطر عيش الغراب النمو خلاله، والحصول على احتياجاتها الغذائية منه؛ بحيث تُنتج فى النهاية محصولاً جيداً من الثمار.

وفى نهاية هذه المرحلة، يجب أن تكون مكونات الكومبوست رطبةً، ولكنها ليست مبللةً حتى يتوفر قدر كافٍ من التهوية داخل الكومبوست، يسمح لهيفات الفطر بالنمو النشط متخللةً جميع المكونات. كما يجب الاهتمام بالتقليب الجيد لمكونات الكومبوست؛ حيث يستمر إعداده حوالى ٧-١٢ يوماً.

وفى المزارع العملاقة لعيش الغراب فى أوروبا، يتم تجهيز الكومبوست باستعمال ماكينات خلطٍ وتقليبٍ عملاقة **Turner**، يمكنها تقليب كمياتٍ كبيرةٍ منه تتراوح بين ٢٥ - ٦٠ طن كومبوست فى الساعة تبعاً لطراز الماكينة(شكل ٩٧).



شكل (٩٧) : ماكينة التقليب العملاقة المستخدمة فى تجهيز الكومبوست.

وخلال تخمير الكومبوست (المرحلة الأولى **phase I**) يبدأ نشاط الميكروبات الهوائية أولاً؛ حيث تستهلك الأكسوجين الموجود داخل الكومة، وعندما تبدأ درجة الحرارة فى الارتفاع، تنشط الميكروبات المحبة للحرارة العالية؛ والتى تحتاج إلى الهواء بكميةٍ قليلةٍ، بينما تثبط بقية الميكروبات الأخرى.

وينتج من تحلل المواد العضوية بواسطة هذه الميكروبات أمونيا وثانى أكسيد الكربون، كما يتبخر كثير من الماء من كومة الكومبوست خلال النشاط الميكروبى ؛ نتيجة ارتفاع درجة الحرارة؛ لذلك يجب تقليب الكومة كل فترة؛ للتخلص من الأمونيا وثانى أكسيد الكربون، ولتوفير الأكسوجين اللازم لنشاط هذه الميكروبات. كما تجب إضافة كمياتٍ مناسبةٍ من الماء حتى لايجف الكومبوست خلال إعداده؛ مما يؤدى إلى تثبيط النشاط الميكروبى.

ويضاف الجبس الزراعى أثناء تقليب الكومبوست؛ حيث يعمل ذلك على تقليل اللزوجة الناتجة من تحليل المادة العضوية؛ ومن ثم لاتلتصق وحدات القش بعضها ببعضٍ، ويظل الكومبوست مسامياً؛ فيتخلله الهواء. ويجب تجنب وجود ظروف لاهوائية داخل الكومبوست خلال إعداده؛ لأن ذلك يؤدى إلى تكوين مواد ضارةٍ بنمو هيفات فطر عيش الغراب.

ويتم خلال تجهيز الكومبوست استهلاك المركبات الكربوهيدراتية البسيطة بفعل الميكروبات النشطة التى تتغذى على السكريات والنشا والبكتين، بينما يتبقى السيليلوز واللجنين وغيرهما من مواد معقدةٍ دون تحلل، والتى تنمو عليها هيفات فطر عيش الغراب وتحللها.

ويراعى عدم ضغط كومة الكومبوست خلال تجهيزها؛ حتى لاتفقد مساميتها، وتصبح الظروف داخلها لاهوائية. كما أن إضافة كمياتٍ زائدةٍ من الماء على كومة الكومبوست أثناء تقليبها يعمل على تقليل الهواء داخلها، بينما يؤدى تقليل الماء المضاف – عن الحد اللازم – إلى جفاف الكومبوست وتثبيط النشاط الميكروبى المسئول عن التخمير.

وفى نهاية هذه المرحلة يتلون الكومبوست بلون بنيّ، ويكون ذا رائحةٍ مقبولةٍ، كما أن القش المستخدم فى تجهيز الكومبوست يصبح سهل القطع. وعندئذٍ تبدأ المرحلة الثانية (**phase II**) التى تتم فيها بسترة الكومبوست على حرارة ٥٨°م–٦٠°م

لمدة ٣–٥ ساعات بغرض قتل الميكروبات الضارة والحشرات والنيماتودا؛ التى قد تكون ملوثةً لمكونات الكومبوست.

ويتم فى هذه المرحلة التخلص من الأمونيا التى يصل تركيزها فى الكومبوست إلى حوالى ٠,٠٧٪ أو أكثر. وتعتبر هذه النسبة من الأمونيا قاتلةً لهيفات فطر عيش الغراب المراد زراعته. ولايمكن الاعتماد على حاسة الشم للحكم على وجود الأمونيا فى الكومبوست؛ وذلك لعدم قدرة الإنسان العادى على تمييز رائحتها، إلا إذا زاد تركيزها على ٠,١٪.

وبعد الانتهاء من بسترة الكومبوست، يترك فى حجرة البسترة لفترة حوالى أسبوع؛ حيث تنخفض درجة الحرارة تدريجيًا من ٦٠°م إلى درجة حرارة الغرفة (حوالى ٢٥°م). وفى خلال هذه الفترة يستكمل الكومبوست التغيرات الطبيعية والكيميائية الخاصة به؛ حيث يتحول – بعد ذلك – إلى بيئةٍ نموذجيةٍ لنمو هيفات فطر عيش الغراب.

وفى أثناء البسترة، يتم قتل البكتيريا؛ حيث تتحلل خلاياها الميتة إلى نيتروجينٍ عضويٍّ يتحد مع مكونات الكومبوست مكونًا معقدًا من السيليلوز واللجنين والبروتين العضوى، الذى يكوّن المصدر الأساسى لتغذية هيفات الفطر.

ب- تعبئة الكومبوست وإضافة التقاوي:

بعد انتهاء المرحلة الثانية من إعداد الكومبوست، تكون المادة العضوية المجهزة صالحةً لزراعة عيش الغراب العادى فيها، وذلك بإضافة تقاوى الصنف المناسب. وتتم تعبئة الكومبوست المجهز فى أشكالٍ مختلفةٍ من الأوعية المستخدمة فى الزراعة.

وقد يعبأ الكومبوست فى أكياسٍ مثقبةٍ من البولى إيثيلين سعة الكيس الواحد حوالى عشرة كيلو جرامات، ويتم رصُّها على أرففٍ بعد إضافة التقاوى خلال التعبئة،

أو قد يعبأ فى أرففٍ معدنيةٍ متحركةٍ على حوامل؛ بحيث يزن المتر المربع من الكومبوست فى الرف (بعمق ١٧ سنتيمتراً) حوالى ٨٠ – ١٠٠ كيلو جرام.

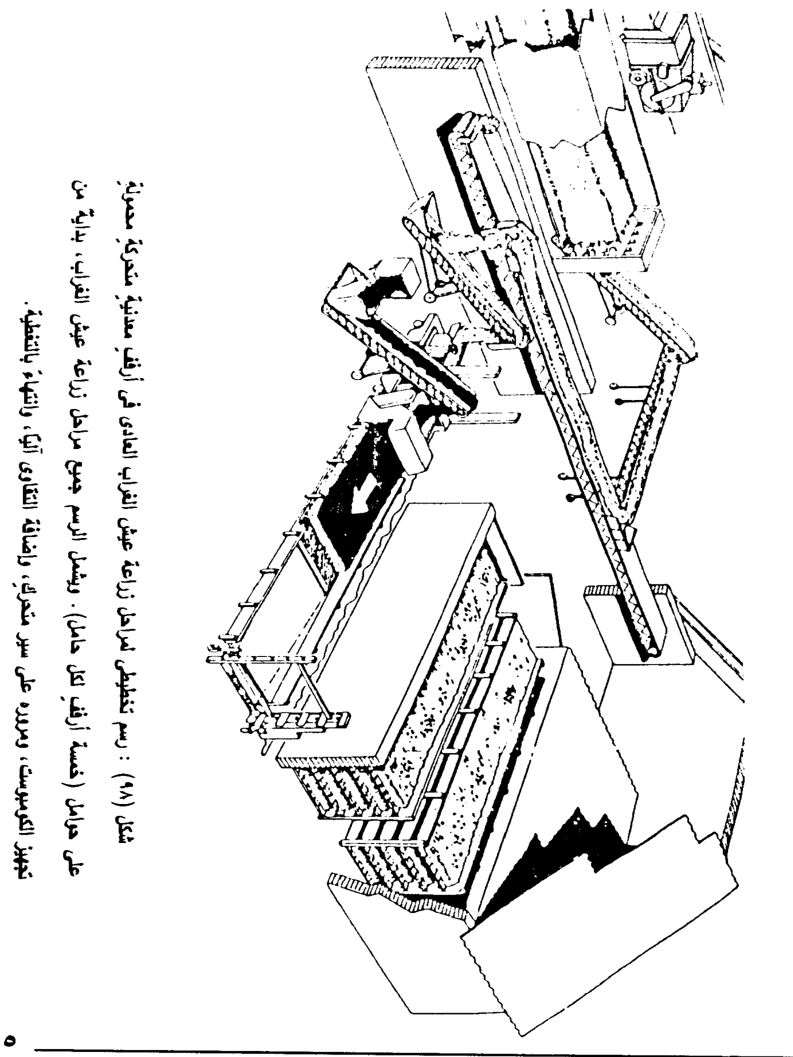
وتضاف التقاوى إلى الكومبوست بمعدل كيلو جرام تقاوى لكل مترين مربعين من الكومبوست؛ أى بمعدل ١ ٪ من الوزن. ويمكن زيادة نسبة التقاوى عن ذلك إذا رغب المزارع فى إسراع نمو الفطر فى الكومبوست، والتغلب على نمو الميكروبات الضارة.

ويتبع – عادةً – نثر التقاوى بطريقةٍ ميكانيكيةٍ فى المزارع الكبيرة؛ حيث تستعمل لهذا الغرض ماكينة خاصة؛ عبارة عن خزانٍ علويٍّ توضع به تقاوى عيش الغراب بعد فركها؛ حتى يسهل توزيعها. وتتساقط وحدات التقاوى إلى أسفل على الكومبوست المجهز على سيرٍ متحركٍ.

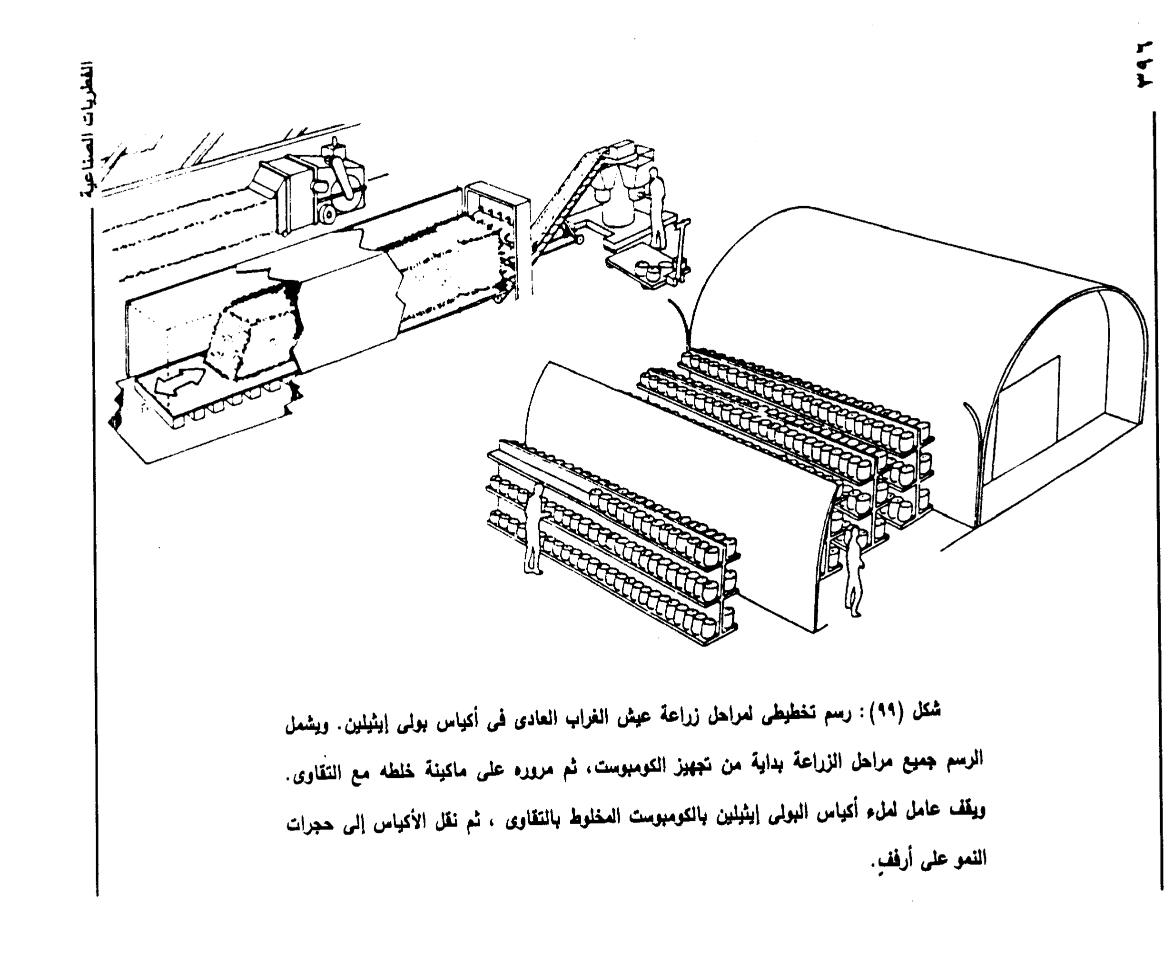
ويتم خلط التقاوى والكومبوست معاً، ثم يعبأ الكومبوست المخلوط بالتقاوى فى الأوعية المستخدمة فى الزراعة، سواء أكياس البولى إيثيلين، أم الصناديق الخشبية، أم الأرفف المعدنية.

وهناك طريقة أخرى لإضافة التقاوى، تتبع فى حالة الزراعة الآلية على الأرفف المتحركة؛ حيث يتم ذلك باستعمال ماكينةٍ متحركةٍ بعجلاتٍ على حواف الأرفف. وللماكينة زوائد معدنية تشبه الأصابع، تنبش سطح الكومبوست، وتضيف التقاوى داخله فى الوقت نفسه.

ويجب مراعاة الاحتفاظ بدرجة حرارة الكومبوست عند حوالى ٢٤°م، ورطوبةٍ حوالى ٧٠٪، بينما يجب أن تكون رطوبة الهواء داخل حجرة النمو عاليةً قدر الإمكان، تجنباً لجفاف سطح الكومبوست. وفى هذه المرحلة تنمو هيفات فطر عيش الغراب منتشرةً خلال الكومبوست على شكل خيوطٍ بيضاء اللون. وعادةً ما تلزم فترة تتراوح بين ١٤ يوماً و ٢١ يوماً لإتمام نمو هيفات الفطر فى الكمبوست.



شكل (٩٨) : رسم تخطيطي لمراحل زراعة عيش الغراب العادي في أرفف معدنية متحركة محمولة على حوامل (خمسة أرفف لكل حامل). ويشمل الرسم جميع مراحل زراعة عيش الغراب، بداية من تجهيز الكومبوست، ومروره على سير متحرك، وإضافة التقاوي آليًا، والانتهاء بالتغطية.



شكل (٩٩) : رسم تخطيطى لمراحل زراعة عيش الغراب العادى فى أكياس بولى إيثيلين. ويشمل الرسم جميع مراحل الزراعة بداية من تجهيز الكومبوست، ثم مروره على ماكينة خلطه مع التقاوى. ويقف عامل لملء أكياس البولى إيثيلين بالكومبوست المخلوط بالتقاوى ، ثم نقل الأكياس إلى حجرات النمو على أرفف.

جـ- إضافة طبقة التغطية :

بعد تمام المرحلة السابقة، تتم تغطية الكومبوست بطبقةٍ تتكون من خليطٍ من البيت موس والتربة والحجر الجيرى؛ وذلك بسمك بوصةٍ واحدةٍ. ويجب تعقيم مادة التغطية قبل استعمالها للتخلص من الميكروبات والآفات الضارة التى قد تلوثها.

وتعمل طبقة التغطية على توفير ظروفٍ مناسبةٍ لنمو هيفات فطر عيش الغراب بطريقةٍ متجمعةٍ، مكونةً خيوطاً سميكةً بيضاء اللون تعرف باسم الأشكال الجذرية **rhizomorphs**. وينتج عن تجمع هذه الخيوط السميكة تكوين تركيبات فطريه تشبه رءوس الدبابيس، عبارة عن ثميرات عيش الغراب **primordia**.

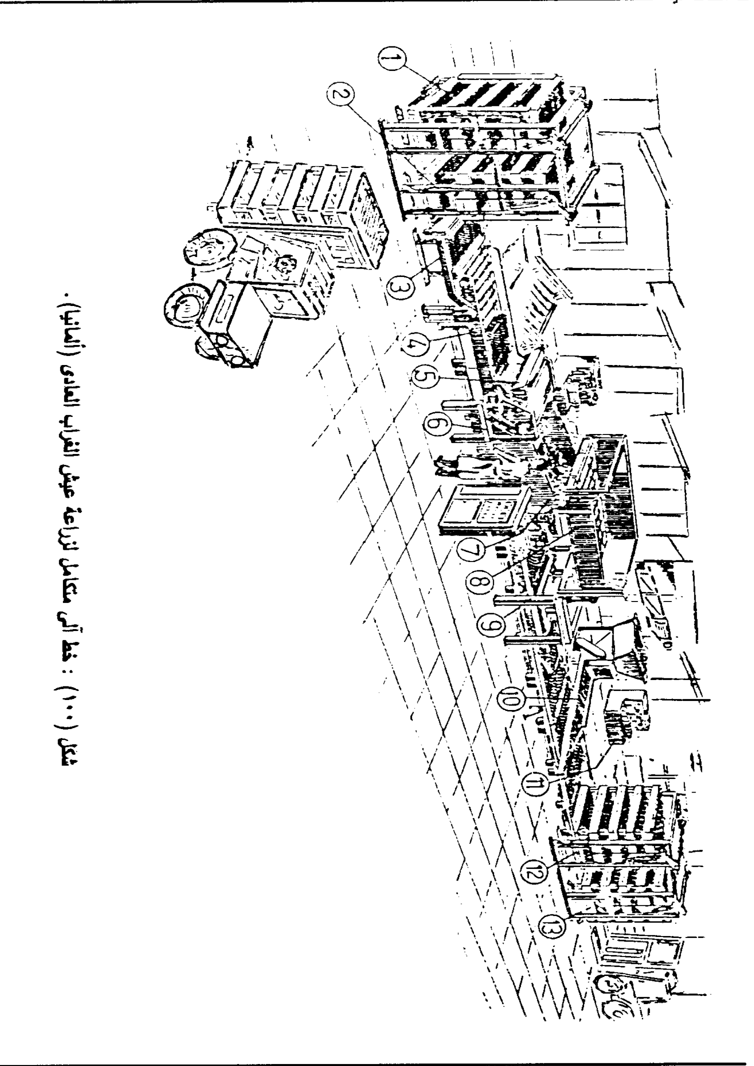
ولا تتكون التركيبات الفطرية السابقة إلا فى طبقة التغطية؛ ومن ثم فإن عدم إضافة طبقة التغطية إلى الكومبوست – الذى تنمو فيه هيفات فطر عيش الغراب – يؤدى إلى عدم تكوين ثمارٍ، وهذا يوضح أهمية طبقة التغطية بالنسبة للإنتاج.

د- تكوين الثمار وجمع المحصول:

تظهر ثميرات عيش الغراب على طبقة التغطية بعد حوالى أسبوعين من التغطية، ثم تَسْتكمل هذه الثميرات نموّها حتى تصل إلى الطور الزرارى، وهو طور الثمار المقفولة؛ حيث يتم جمعها فى هذه المرحلة قبل تفتحها؛ وذلك بعد ١٨–٢١ يوماً بعد التغطية.

ويراعى خلال مرحلة إنتاج الثمار خفض نسبة ثانى أكسيد الكربون داخل حجرات النمو؛ بحيث يكون أقل من ٠,٠٨٪ (نسبته فى الهواء الجوى ٠,٠٣٪). ويتم التحكم فى نسبة الأكسوجين / ثانى أكسيد الكربون فى هواء حجرات النمو؛ وذلك عن طريق دفع مزيدٍ من الهواء النقى؛ مما يعمل على خفض تركيز ثانى أكسيد الكربون ورفع نسبة الأكسوجين.

ويجب مراعاة تجنب خفض الرطوبة الجوية داخل حجرات النمو، والذى ينتج – عادةً – عند دفع هواءٍ نقـىٍّ جافٍ من خارج المزرعة بغرض التهوية؛ لذلك يجب زيادة الرطوبة الجوية بعد التهوية.



شكل (١٠٠) : خط آلي متكامل لزراعة عيش الغراب العادي (ألمانيا).

شكل (١٠٠) :

١ - ماكينة تفريغ الصناديق الخشبية من الكومبوست الذي سبقت زراعته.

٢ - الكومبوست الذي سبقت زراعته .

٣- ماكينة قلب الكومبوست الذي سبقت زراعته، (تجميعه - بسترته - تعبئته في أجولة؛ حيث يستعمل كسمادٍ عضويّ للحدائق ونباتات الزينة).

٤ - سير متحرك ينقل صناديق الزراعة الفارغة.

٥ - ماكينة إضافة التقاوي.

٦- خزان خلط الكومبوست (الذي سبق تجهيزه وسبقت بسترته) بالتقاوي.

٧- ماكينة تسوية سطح الكومبوست في الصندوق الخشبي.

٨- ماكينة نقل الصناديق الخشبية المحتوية علي الكومبوست المنزرع بالتقاوي.

٩- ماكينة ضغطٍ هيدروليكية.

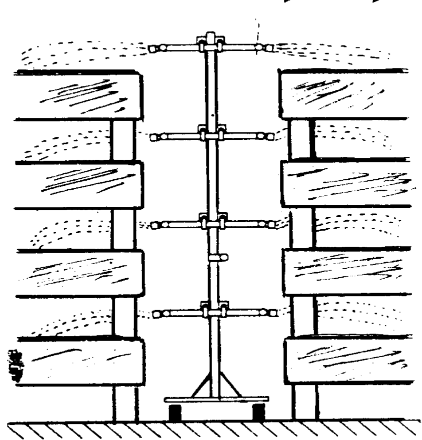
١٠ - ماكينة إضافة طبقة التغطية.

١١ - ماكينة هيدروليكية لسحب الصناديق الخشبية بعد تمام زراعتها وتغطيتها.

١٢ - حاملٌ معدني لرفع الصناديق الخشبية.

١٣- نقل الحوامل المعدنية المحتوية علي صناديق الزراعة الخشبية إلي حجرات النمو.

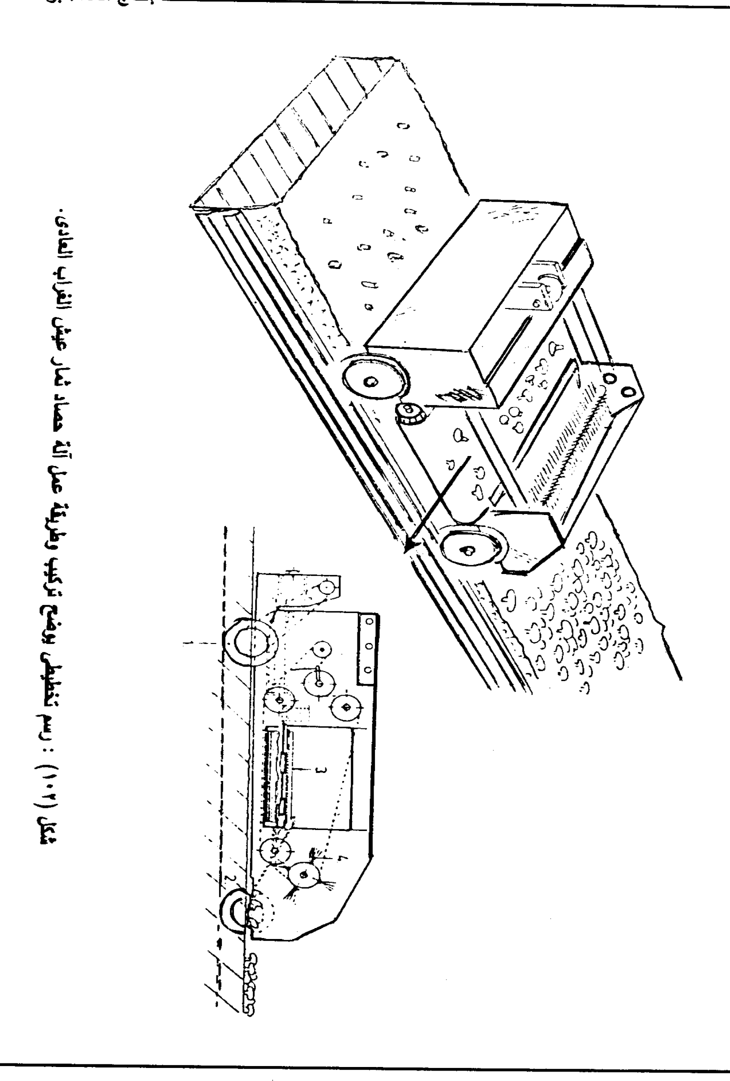
أما رى الكومبوست، فإنه يتبع – عادة– طريقة إضافة الماء على صورة رزاز من قطيرات الماء الدقيقة؛ باستعمال وحدات ريٍّ بالرش مركبةٍ على حاملٍ متحركٍ؛ بحيث يتم رى صناديق الزراعة المتراكبة بعضها فوق بعضٍ فى نفس الوقت؛ توفيراً للمجهود، ولتوزيع مياه الرى بطريقةٍ متجانسةٍ (شكل١٠١).



شكل (١٠١) : طريقة رى الكومبوست باستعمال رشاشات الماء المتراكبة

ولكن يجب الاحتراس عند رش الماء فى حجرات النمو وعلى الكومبوست الذى تنمو عليه ثمار عيش الغراب؛ بحيث لا تبتلّ الثمار؛ مما يجعلها قابلةً للعدوى بميكروبات العفن.

ويتم جمع محصول ثمار عيش الغراب يدويّـًا فى المزارع المتوسطة والصغيرة الحجم، بينما يجمع آليًا فى المزارع الكبيرة. وتتركب آلة قطف الثمار (شكل١٠٢) من عربةٍ صغيرةٍ تسير بعجلٍ على حافتى الرف المعدنى، وهى ذات سلاحٍ حادٍّ فى مقدمتها، يقوم بقطع الثمار عند أعناقها، فوق سطح طبقة التغطية مباشرةً.



شكل (١٠٢) : رسم تخطيطي يوضح تركيب وطريقة عمل آلة حصاد ثمار عيش الغراب العادى.

ويتم قطف ثمار عيش الغراب على عدة مراحل، يطلق على كل مرحلة (قطفة flush) . ويبلغ إجمالى عدد القطفات حوالى ست قطفات، بين كل قطفة والأخرى حوالى ٧-١٠ أيام، ويتوقف ذلك على مرحلة نضج الثمار المرغوبة. ويستمر إنتاج محصول عيش الغراب حوالى ٣٥ - ٤٢ يوماً، وقد يصل إلى ٦٠ يوماً.

ويتوزع محصول ثمار عيش الغراب خلال مراحل القطفات السابقة بطريقة غير منتظمة؛ حيث تعطى القطفة الأولى حوالى ٣٥٪ من إجمالى محصول الثمار، والقطفات التالية حوالى ٢٠٪ ، ١٥٪، ١٢٪ ، ١٠٪ ، ٨٪ من إجمالى المحصول على الترتيب ؛ وعلى ذلك فإن إجمالى محصول الثلاث قطفات الأولى يصل إلى حوالى ٧٠٪ من المحصول الكلى.

وبعد الانتهاء من جنى الثمار تنتهى الدورة، وتتم بسترة حجرة النمو بما فيها من كومبوست عن طريق دفع بخار الماء الساخن؛ حتى ترتفع درجة الحرارة إلى ٦٠ْم؛ وذلك لمدة ٣-٥ ساعات. والغرض من هذه العملية هو القضاء على الميكروبات والآفات الضارة التى قد تكون موجودةً فى الكومبوست بعد انتهاء جنى المحصول.

ويتراوح إنتاج المتر المربع من مسطح الإنتاج للكومبوست بين ١٦ كيلو جرام و٢٠ كيلو جرام من ثمار عيش الغراب. وقد يزداد المحصول عن ذلك مع الخدمة الجيدة؛ حيث يصل إنتاج بعض المزارع النموذجية فى هولاندا إلى نحو ٣٠ كيلو جرام لكل متر مربع.

ويستخدم الكومبوست الناتج من زراعة عيش الغراب العادى بعد بسترته فى زراعة الشتلات ونباتات الزينة وفى حدائق الفاكهة؛ مثل الموز وغير ذلك؛ حيث يوفر للجذور جميع الاحتياجات اللازمة للنمو؛ مثل العناصر الغذائية، والاحتفاظ بالرطوبة حول الجذور، بالإضافة إلى توفير بعض المواد المشجعة للنمو.

٦- زراعة عيش الغراب المحارى:

انتشرت زراعة عيش الغراب المحارى خلال السنوات الأخيرة فى مصر، وبعض الدول العربية كأحد المشروعات الصغيرة للشباب، كما أقبل جمهور المستهلكين على تناول هذا النوع من عيش الغراب؛ نظراً لطعمه الفاخر وقيمته الغذائية العالية، وسعره المعتدل.

وتتكون ثمار عيش الغراب المحارى من قبعات متراكبة بعضها فوق بعض،، لونها أبيض عادةً، قد تميل إلى اللون البنى الفاتح أو الرمادى أو البنفسجى؛ حيث يتراوح قطر القبعة الناضجة بين ٥سم و ٣٥سم.

وتحمل قبعات هذا الفطر جانبياً على سيقانٍ بيضاء قصيرةٍ ملساء، بينما تنمو خياشيم الفطر على الجزء السفلى من القبعة. ولحم الثمرة أبيض اللون متماسك، ذو رائحةٍ وطعمٍ مقبولين، والجراثيم بيضاء اللون.



شكل (١٠٣) : ثمار فطر عيش الغراب المحارى

ويزرع هذا الفطر على عديدٍ من المخلفات الزراعية الخام – مثل قش النجيليات – بعد بسترتها. ويمكن غسل هذه المواد العضوية قبل استخدامها فى الزراعة إذا دعت الضرورة إلى ذلك؛ مثل تلوثها بحبيبات الطين التى تصبح مصدراً للتلوث بميكروبات وآفات التربة الضارة.

أ- المخلفات العضوية المستخدمة في الزراعة:

تستخدم عديد من المخلفات العضوية فى زراعة عيش الغرب المحارى بنجاح؛ مثال ذلك مخلفات الحقل؛ كقش المحاصيل النجيلية، وحطب القطن، والذرة، وقوالح الذرة، وعِرْش بعض محاصيل الخضر، وكذلك مخلفات مصانع الأغذية؛ مثل مصاصة القصب (البجاس)، ومخلفات عصر الفواكه، وصناعة المربى، وقشور الفاصوليا، واللوبيا، وغيرها.

وبالإضافة إلى ما سبق، يمكن استخدام نواتج تقليم بساتين الفاكهة، والأغصان والفروع الميتة وأشجار الموز وأوراقها فى زراعة عيش الغراب المحارى، كما تستعمل بعض المواد العضوية الناتجة من تصنيع الأخشاب؛ مثل نشارة الخشب، وبقايا الأخشاب، ولحاء الأشجار لنفس الغرض.

ويجب أن تكون المادة العضوية المختارة لزراعة عيش الغراب المحارى عليها مقطعةً بطريقةٍ مناسبةٍ، وخاليةً من المواد السامة والعناصر الثقيلة والمبيدات، وأيضاً الميكروبات الضارة والآفات الزراعية، وغيرها من مواد تضر بنمو الفطر.

ب- اختيار مكان الزراعة:

يجب أن يكون المكان المراد زراعة عيش الغراب المحارى فيه مناسباً لذلك الغرض؛ فمن الواجب أن يكون محكم الإغلاق، لاتجد الحشرات والقوارض إليه سبيلاً، ذا أرضيةٍ صلبةٍ يسهل تطهيرها، ولا ترتفع درجة الحرارة به عن ٣٠°م فى الأوقات الحارة.

ويمكن استكمال احتياجات زراعة عيش الغراب بالمكان المختار بتركيب وحدة ريّ بالضباب، أو تركيب سلك بالنوافذ لعدم دخول الحشرات، أو إنارته إذا كان مظلماً ... وهكذا، كما يمكن استعمال أجهزةٍ بسيطةٍ لقياس درجة حرارة الهواء ورطوبته؛ ليكون ذلك دليلاً للمزارع خلال فترة رعايته للمزرعة.

كما يجب الاهتمام بتهوية المزرعة تهويةً جيدةً؛ نظراً لاحتياج نموات عيش الغراب إلى الأكسوجين خلال فترة الإثمار. وقد يكفى فتح النوافذ لتهوية المكان، ولكن فى حالاتٍ أخرى يجب تركيب شفاطٍ للتهوية؛ وخاصة إذا كانت حركة الهواء محدودةً.

وتراعى تهوية المزرعة قبل ترطيبها؛ حتى لايفقد الهواء رطوبته إذا تمت التهوية بعد الترطيب. وتؤدى قلة التهوية إلى انخفاض نسبة الأكسوجين فى هواء المزرعة؛ مما يؤدى إلى تثبيط تكوين الثمار وتفتحها، وعدم استكمالها لنموها الطبيعى.

كما تؤثر الإضاءة على تكوين الثمار؛ حيث تحتاج إلى نحو أربع ساعات ضوءٍ يوميـّـا، بصرف النظر عن مصدر ذلك الضوء إن كان طبيعياً أم صناعياً؛ فإذا تعرضت الثمار لفترة إضاءةٍ أقل من أربع ساعاتٍ نمت نمواً غير طبيعىٍ ؛ حيث يُختزل حجم القبعات، وتطول السيقان، بينما تؤدى زيادة فترة الإضاءة إلى تلون الثمار بألوانٍ باهتةٍ تبعاً لنوع الفطر المنزرع.

جـ- بسترة المادة العضوية:

الغرض من هذه العملية قتل معظم الميكروبات والآفات الضارة التى قد تكون موجودةً فى المادة العضوية المراد استخدامها فى زراعة عيش الغراب المحارى. وهناك وسيلتان تستخدمان فى ذلك، الأولى دفع تيارٍ من بخار الماء الساخن داخل حيزٍ مغلقٍ مخزنة به المادة العضوية، والثانى غليان المادة العضوية فى الماء المغلى مباشرة.

ويتبع - عادةً - وضع المادة العضوية المراد بسترتها داخل أجولة من القماش

السميك عند بسترتها؛ وذلك لتسهيل نقلها وحمايتها من التلوث بعد ذلك. وبعد الانتهاء من عملية البسترة، تترك المادة العضوية لمدة ليلةٍ حتى تبرد، وتتخلص من الماء الزائد.

د- الأوعية المستخدمة في الزراعة:

تستخدم لذلك الغرض أوعية مصنوعة من البلاستيك؛ مثال ذلك السلال (الأسبتة) أو الأسطوانات، أو الشباك، أو الأكياس. وتختلف كمية المادة العضوية المستخدمة فى كل وعاءٍ تبعاً لسعته؛ فالسلة الواحدة تستوعب ٢كيلو جرام مادةً عضويةً مبسترةً تقريباً، بينما يلزم لزراعة الأسطوانة نحو ٢٠-٢٤ كيلو جرام مادة عضوية، ويفضل زراعة ١٠ - ١٥ كيلو جرام من هذه المادة فى كل كيس.

هـ- إضافة التقاوي :

تستخدم التقاوى من مصدرٍ موثوقٍ به لزراعة عيش الغراب؛ مثل وحدة أبحاث وإنتاج عيش الغراب بكلية الزراعة - جامعة عين شمس بشبرا الخيمة، وغيرها من الوحدات المناظرة بالجامعات ومراكز البحوث الأخرى. وتستعمل التقاوى بمعدل ٤ ٪-٥ ٪ من وزن المادة العضوية المبسترة.

ويمكن إضافة التقاوى على صورة طبقاتٍ متبادلةٍ مع المادة العضوية، أو قد تخلط بالمادة العضوية المراد زراعتها مع مراعاة النسبة التى سبقت الإشارة إليها. ويجب إجراء عملية الزراعة وإضافة التقاوى فى مكانٍ نظيفٍ بعيداً عن مصادر التلوث، ويمكن تطهيره بأحد محاليل التطهير (كالفينول أو السافلون) قبل العمل.

وبعد تمام زراعة المادة العضوية بالتقاوى، تغطى الأوعية المستخدمة فى الزراعة بأكياس بلاستيك شفافةٍ؛ لتسهل مراقبة نمو الفطر، والتعرف على وجود تلوثٍ فى وقتٍ مبكرٍ.

و ـ فترة التحضين :

هي الفترة المحصورة بين إضافة التقاوي إلي المادة العضوية المستخدمة في زراعة عيش الغراب، وتمام نمو الفطر عليها. وعندما تنمو هيفات الفطر البيضاء علي هذه المادة العضوية تماماً، ترفع الأغطية البلاستيك، وتبدأ عمليات الخدمة المختلفة مثل التهوية، والرى، وجمع الثمار الناضجة.

وتتراوح فترة التحضين بين أسبوع واحدٍ وأسبوعين؛ تبعاً لنوع الفطر المستخدم في الزراعة ودرجة الحرارة السائدة فى فصول السنة المختلفة.

ز ـ تكوين الثمار :

يبدأ تكوين ثمار عيش الغراب المحارى بعد نحو أسبوع من إزالة الغطاء البلاستيك وانتهاء فترة التحضين. وفي هذه الفترة يجب الاهتمام بتوفير العوامل اللازمة للإثمار؛ مثل ارتفاع الرطوبة النسبية، وتجنب الحرارة العالية، وفترة الإضاءة اللازمة لتكوين الثمار.

ويبدأ تكوين الثمار علي هيئة نمواتٍ صغيرة الحجم، كروية الشكل، مبعثرةٍ علي سطح المادة العضوية، أو تكون متجمعةً بعضها مع بعض في بعض الأحيان. وتتميز هذه النموات الصغيرة بانها ذات رأس منتفخ قليلاً، ولونها داكن.

وتتفرع هذه الثميرت الصغير أثناء نموها لتكوين ثمارٍ ذات قبعات متراكبةٍ فوق بعضها؛ بحيث تكون القبعات الأسبق فى التكوين أكبر حجماً. وأحياناً تشاهد ثمار مفردة ذات قبعاتٍ تحمل مركزيـّـاً أو جانبيـاً علي سيقانٍ بيضاء قصيرةٍ مصمتةٍ.

ويتم قطف ثمار عيش الغراب المحاري عند نضجها، ولاتوجد علاقة ارتباطٍ بين حجم الثمرة ودرجة نضجها. وتعرف الثمار الناضجة بتوقفها عن النمو وتَلَوُّن حوافها باللون البني الفاتح، والتفاف حافة القبعة لأسفل.

وتُنزع الثمار الناضجة من علي المادة العضوية المزروعة فيها، ثم تُنظف بعد ذلك وتُعبأ. ويجب أن تكون ثمار عيش الغراب جيدة التكوين، وطازجةً عند عرضها للبيع،

كما يراعي أن تكون الساق قصيرة، والقبعات خاليةً من البقع أو التشوهات. وتحفظ الثمار ـ عادةً ـ في الثلاجة لمدة أسبوع؛ حيث تكون صالحةً للاستهلاك خلال هذه الفترة.

٧ـ زراعة أنواع أخري من عيش الغراب :

هناك عديد من أنواع عيش الغراب الأخري التي يمكن زراعتها بسهولةٍ؛ مثل فطر عيش غراب الشيتاكي **Shii- Taki**، وعيش غراب القش **straw mushroom**، وعيش الغراب ذي القبعة البنية **brown cap mushroom**، وعيش غراب الشتاء **winter mushroom**، وغيرها كثير. ويمكن الرجوع إلي موسوعة عيش الغراب العلمية ـ الجزء الثاني ـ دكتور محمد علي أحمد ـ الدار العربية للنشر والتوزيع ١٩٩٥)، وكذلك (عيش الغراب وعالمة الساحر ـ دكتور محمد علي أحمد ـ دار المعارف ـ ١٩٩٨)؛ للتعرف علي طرق زراعة عديد من أنواع فطريات عيش الغراب.

٨ـ مشاكل إنتاج عيش الغراب :

هناك مصادر عديدة لتلوث مزارع عيش الغراب بالميكروبات والآفات الضارة؛ مثل: الفطريات، والبكتيريا، والحشرات، والأكاروس، والنيماتودا، والحلم. ويلاحظ أن ثمار عيش الغراب لا تتحمل العدوي؛ حيث سرعان ما تنهار وتتحلل أنسجتها خلال ساعاتٍ من الإصابة.

وحيث إنه من غير المرغوب فيه استخدام مواد كيماوية في رش المزرعة؛ لذا فإن الإجراءات المتبعة في مثل هذه الحالات تعتمد علي وقاية المزرعة وحمايتها من التلوث بمثل هذه الميكروبات والآفات الضارة.

وتعتبر المواد العضوية المستخدمة في زراعة عيش الغراب هي أهم مصادر التلوث؛ ويرجع ذلك إلي أنها بيئة مناسبة لنمو مثل هذه الأحياء الدقيقة، كما أن حبيبات

التربة تتعلق بها؛ مما يسبب زيادة مصادر التلوث. وهذا يؤكد أهمية بسترة المادة العضوية؛ كوسيلةٍ فعالةٍ للتخلص من مصدر العدوي.

وتلعب الميكروبات المنقولة بالهواء دوراً هاماً في تلوث المزرعة، وخاصةً بالفطريات التي تكوّن جراثيم جافةً مسحوقيةً؛ مثل الفطريات التابعة للأجناس ***Trichoderma***، و ***Aspergillus*** و ***Penicillium***، وكذلك بعض أنواع البكتريا التابعة للجنس ***Pseudomonas***، التي تسبب مشاكل لاحصر لها عند ارتفاع رطوبة المزرعة إلي أكثر من الحد المرغوب فيه.

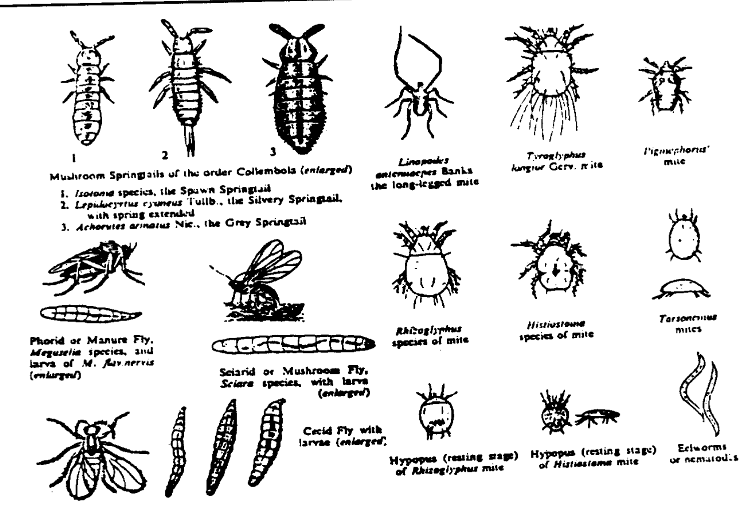
كما تظهر حشرات الذباب والهاموش علي المادة العضوية؛ حيث تلتهم يرقاتُها هيفات الفطر، وكذلك سيقان الثمار؛ مما يؤدي إلي عفنها. ويعتبر الحلم من الآفات الخطيرة التي تهاجم الثمار، ومنه أنواع مختلفه؛ مثل: حلم القش، وحلم عيش الغراب الأبيض، وحلم الفلفل الأحمر، والحلم ذو الأرجل الطويلة.

وقد تشاهد ثمار عيش غراب مصابةٍ بالنيماتودا، وخاصة عندما تكون المادة العضوية مبللة وسيئة البسترة. ويمكن التعرف علي وجود النيماتودا عن طريق اختفاء النموات البيضاء لهيفات الفطر؛ نظراً لتغذية هذه النيماتودا عليها.

٩ - إنتاج علف غير تقليدى :

يعتبر نمو هيفات فطر عيش الغراب المحاري علي المخلفات العضوية التي سبقت بسترتها نوعاً من التحول الحيوي لهذه المخلفات المحتوية علي مواد عضويةٍ معقدةٍ؛ كالسيليلوز، واللجنين؛ حيث تتحلل مثل هذه المواد إلي مواد أقل تعقيداً.

وحيث إن مثل هذه المخلفات العضوية تتراكم سنةً بعد أخري في مصر وغيرها من دول العالم الثالث ملوثةً للبيئة، ومسببةً مشاكل لا حصر لها، فإن إعادة تدوير هذه المخلفات يعمل علي الاستفادة منها وتجنُّب الأضرار الناتجة عن تراكمها دون استخدامٍ.



شكل (١٠٤) : بعض الآفات الضارة بمزرعة عيش الغراب

وتتميز المخلفات العضوية الحقلية باحتوائها علي تركيز عالٍ من اللجنين و/ أو السيليلوز - مثل حطب القطن - وهي غير مناسبة لتغذية الحيوانات نظراً لانخفاض قدرة هذه الحيوانات علي هضم مثل هذه المخلفات، بالإضافة إلي انخفاض محتواها الغذائي.

ويعتبر استخدام المخلفات العضوية في زراعة عيش الغراب أحد الجوانب الإيجابية لإعادة تدوير المخلفات، وحماية البيئة من التلوث، وإنتاج محصول من ثمار عيش الغراب ذات قيمةٍ غذائيةٍ عاليةٍ؛ كغذاءٍ بروتينيٍّ لدول العالم الثالث التي تعاني نقص الأغذية البروتينيةِ الحيوانية، بالإضافة إلي تشغيل الشباب في مشروع استثماريٍّ صغير، وأيضاً الاستفادة من المخلفات المحولة حيويـــًا، بفعل نمو فطر عيش الغراب إلي علفٍ للحيوانات.

ولقد أظهرت نتائج عديدٍ من التجارب ـ التي أجريت علي التحول الحيوي لهذه المخلفات العضوية ـ انخفاض نسبة الألياف الخام، وزيادة محتواها من البروتين والدهون الخام، وكذلك العناصر المعدنية والفيتامينات؛ وهذا يجعل لهذه المخلفات الناتجة من زراعة عيش الغراب أهميةً خاصةً؛ كعلفٍ غير تقليديٍّ للحيوانات.

١٠ـ الكمأة.. كنز الصحراء:

تُعْرَف الكمأة **Truffles** بأسماء متعددة؛ مثل: الترفاس، والفجع، والفجيجة، وكلها مرادفات لأحد الفطريات الأسكية الكبيرة الحجم، والتى تنمو تحت سطح الأرض بجوار جذور بعض أعشاب الصحراء، مكونةً نوعاً من أنواع تبادل المنفعة يطلق عليه اسم «الميكوريزا الخارجية **ectomycorrhiza**».

وفي بلادنا العربية ذات البيئة الجافة، تتساقط الأمطار ـ عادةً ـ مصحوبةً ببرقٍ ورعد، وذلك خلال فترةٍ قصيرة من فصل الشتاء أو الربيع. ويعمل البرق علي تكوين أكاسيد النيتروجين فى الهواء الجوى، التى تذوب مع قطرات مياه المطر، وتسقط على سطح الأرض محملةً بالمواد النيتروجينية اللازمة لنمو الكمأة فى التربة الفقيرة لرمال الصحراء؛ ولذا يطلق على الكمأة اسم «بنت الرعد».

وتتكون الأجسام الثمرية لفطر الكمأة نتيجة نمو هيفاته على جذور العائل النباتى المناسب فى صورة غلالةٍ هيفيةٍ. وفى هذه الأثناء، يحصل الفطر على المواد الكربوهيدراتية من النبات، بينما يمده هو بالمركبات النيتروجينية، وييسر له الحصول على الماء الذى يذوب فيه عديد من أملاح التربة كالفوسفات.

وبعد فترةٍ من نمو هيفات الفطر حول الجذور، تتكون ثميرات صغيرة من الكمأة، تكبر تدريجياً مكونةً ثماراً أسكية تشبه درنات البطاطس الصغيرة فى شكلها، إلا أنها ذات سطحٍ محببٍ. وقد تكبر الثمار فى الحجم بعد سقوط الأمطار؛ حيث تصل فى وزنها إلى نحو كيلو جرام.

وعندما تكبر ثمار الكمأة تحت سطح الأرض، تتشقق الطبقة السطحية من الرمال؛ مما يسهل التعرف على مكان وجودها. كما يمكن التعرف على وجود الثمار ذات الرائحة القوية عن طريق تدريب كلابٍ خاصةٍ، تنبش فى الأرض باحثةً وراء هذه الرائحة حتى تعثر عليها.

وهناك أنواع مختلفة من الكمأة؛ منها الفاتحة اللون أو الداكنة، ولكنها كلها مأكولة، ولا توجد بين الكمأة أنواع سامة. وتتميز ثمار الكمأة بقيمتها الغذائية العالية وطعمها الفاخر؛ وذلك لاحتوائها على نسبةٍ من البروتين الغنى بالأحماض الأمينية الأساسية، والتى لا يستطيع جسم الإنسان تكوينها بنفسه.

ويشبه طعم الكمأة لحم الضأن المشوى؛ وهى سهلة الهضم، غنية بالفيتامينات، وخاصةً فيتامين C، كما أنها غنية بكثيرٍ من الأملاح المعدنية. ولقد أثبت البحث العلمى أن بروتين الكمأة سهل الهضم، يستفيد منه الجسم مباشرةً. ويستخدم مسحوق الكمأة كتوابل ذات طعمٍ ونكهةٍ فاخرةٍ، بينما تستعمل الأنواع ذات الرائحة العطرية النفاذة فى صناعة بعض أنواع العطور الفاخرة.

سادساً: إنتاج مركبات النكهة ومكسبات الطعم والرائحة:

من المعروف أن بعض أنواع الفطريات تعطى روائح عطريةً مقبولةً عند نموها على البيئات الغذائية فى المعمل؛ فعلى سبيل المثال تنتج الأنواع التابعة للجنس ***Trichoderma*** رائحةً تشبه جوز الهند، وثمار فطر عيش الغراب من النوع ***Lepista irina*** ذات رائحة تشبه زيت زهرة السوسن؛ نظراً لاحتوائها على مركباتٍ عطريةٍ أطلق عليها **Lepistorones**.

وفى الآونة الأخيرة، تم إنتاج عديدٍ من مركبات النكهة المستخدمة فى التصنيع الغذائى من الكائنات الحية الدقيقة خاصة البكتيريا. وتتميز هذه المركبات بجودتها، ورخص ثمنها، وسهولة إنتاجها؛ بالمقارنة بالمستخلصات النباتية.

ومن مركبات النكهة المنتجة بواسطة الفطريات:

١ - إنتاج النيوكليوتيدات 5' nucleotides:

تضاف النيوكليوتيدات إلى الأغذية كمواد محسنة للنكهة **flavor enhancer** حيث يرجع تأثيرها إلى الاسترات الفوسفاتية لهذه المركبات، وكذلك إلى مجموعة الهيدروكسيل الموجودة فى الوضع السادس.

ويتم تحضير هذه المركبات باستخلاص الحمض النووى الريبوزى **RNA** من خلايا الخميرة، ثم عمل معلقٍ منه فى محلولٍ مائيٍ وتحضينه مع إنزيم **5'phospho diestrase** الناتج من الفطر ***Penicillium citrinum*** على درجة حرارة ٧٠°م؛ حيث يتم تحلل الحمض النووى الريبوزى إلى مركبات النكهة؛ التى أهمها **5'-inosinate** و **5'-guanylate**.

٢ - إنتاج التربينات terpenes :

تعتبر التربينات المكون الأساسى المسئول عن رائحة كثير من الزيوت العطرية؛ وهى عبارة عن هيدروكربونات، تتكون من وحدات ايزوبرين (2- methy α 1,3- bu-tadiene)؛ سواء فى حلقة مفتوحة، أم مقفولة، أم عطرية مشبعة، أم غير مشبعة.

وتتكون معظم هذه المركبات بواسطة النباتات، إلا أن هناك عديداً من الكائنات الحية الدقيقة تقوم بإنتاجها. ويوضح جدول (٢٦) بعض الأمثلة للفطريات المنتجة للتربينات، وأنواع هذه التربينات المنتجة بواسطتها.

جدول (٢٦) إنتاج التربينات بواسطة الفطريات (Trivedi, 1986)

الفطر	التربينات المنتجة	الرائحة
Trametes odorata	Geraniol, d-limonene	رائحة الفاكهة
Phellinus sp	α - pinene	رائحة الفاكهة
Kluyveromyces lactis	Citronellol, linalool, geraniol	رائحة الفاكهة والأزهار
Ceratolysis moniliformis	Citronellol, linalool, geraniol	رائحة الموز والخوخ
Ceratolysis spp.	Nerol, terpineol	رائحة الفاكهة
Ascoidea hylecocti	Citronellol, linalool	رائحة الفاكهة والأزهار
Ceratocystis coerulescens	Citronelloll, citron ellyl acetate	رائحة الفاكهة
C. fimbriata	Citronellol, linalool, geraniol	رائحة الفاكهة
C.variospora	Geraniol, citronellol, nerol	رائحة الموز
C.virescens	Linalool, geranylacetate	رائحة الفاكهة
Lentinus lepideus	Linalool, sesquiterpenes	رائحة الفاكهة
Penicillium decumbens	Thujopsene, nerolidol	رائحة الصابون

ومن أهم الفطريات المنتجة للتربينات بعض الأنواع التابعة للجنس ***Ceratocystis***؛ ومن أهمها النوع ***C.variospora*** الذى ينتج كحولات وحيدة التربين **monoterpene alcohols** بتركيز عدة جراماتٍ لكل لتر بيئةٍ على المستوى نصف التجارى.

ومن الفطريات الأخرى المنتجة للتربينات فطر الخميرة ***Kluyveromyces lactis*** الذى ينمو على اللاكتوز الموجود بشرش اللبن. ولقد تم عزل سلالاتٍ من هذا النوع من فطر الخميرة تنتج ٥٠ ميكروجرام لكل لترٍ من كحول لينالول **linalool** وكحول سيترونيلون **citronellon**.

ولقد تمت زيادة انتاجية هذه السلالات من خميرة ***K.lactis*** عن طريق الهندسة الوراثية، ثم استخدمت السلالات المهندسة وراثيا فى إجراء التخمر تحت ظروفٍ مثلى. ويمكن الحصول على الكتلة الحيوية لخلايات الخميرة بعد الانتهاء من إنتاج التربينات؛ حيث تستخدم هذه الخلايا فى الصناعات الغذائية، أو فى صناعة علائق الحيوان.

وتعتبر هذه الطريقة من الطرق غير الملوثة للبيئة؛ نظراً لخفض معدل التلوث الذى تسببه مصانع الألبان، وذلك بالاستفادة من الشرش المتخلف عن صناعة الجبن فى إنتاج منتجاتٍ مفيدةٍ اقتصاديا.

٣ - إنتاج المنتول L-menthol:

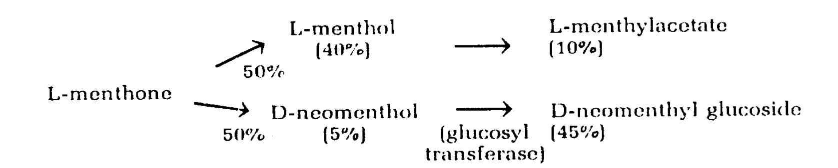
تستخدم عديد من الفطريات فى إنتاج المنتول ومشابهاته الضوئية **optical isomers**؛ مثال ذلك: الفطر ***Geotrichum candidum***، وبعض الأنواع التابعة للجنس ***Trichoderma***، وللجنس ***Schizophyllum***، الذى يتبعه بعض أنواع فطريات عيش الغراب ذات القبعات المروحية الشكل.

وتتميز هذه المركبات العطرية بتنوع استخداماتها فى عديدٍ من الصناعات؛ مثل صناعة مستحضرات التجميل والمواد المعطرة للحمامات، ومواد

التنظيـف، وغـير ذلك؛ حيث يستهلك من هذه المركبات العطرية ما يقدر ببليونى دولار سنويا.

ويعتبر المنتول من المركبات العطرية الأساسية، ويبلغ الإنتاج العالمى منه أكثر من ٣٠٠ طنّ سنويا. ويتم إنتاج المنتول بصفةٍ رئيسيةٍ من نبات النعناع *Mentha piperita*؛ حيث يكونّ هذا النبات مركب **L-menthone** خلال المرحلة المبكرة من الإزهار، ثم يتحول هذا المركب إلى **L-menthol** فى مرحلة الإزهار الكلى.

ويتم اختزال المنثون **L-menthon** عن طريق إنزيمين مختلفين؛ كما هو موضح فى الشكل التالى:



شكل (١٠٥) : دورة تحول المنثون L-menthone إلى منتول L-Menthol

ويمكن استخدام الفطريات فى إنتاج المنتول؛ حيث تعتبر اليابان أكبر منتج لهذا المركب. ولقد قام مجموعة من الباحثين اليابانيين وهم **Omata etal (1981)** بتحليل مركب **DL-menthol succinate** باستخدام فطر الخميرة ***Rhodotorula minuta var. texensis*** المسكنة على عمود من مادة **polyurethane**.

وفى الدراسة السابقة، تمت إذابة مركب **DL-menthol succinate** فى محلول هبتان مشبع بالماء كمذيب، وإمراره على العمود المحمل بالخلايا المسكنة. وكانت نسبة التحويل ٧٢٪، ودرجة نقاوة مركب **L-menthol** الناتج ١٠٠٪ نقاوةً ضوئيةً.

وقدرت فترة نصف عمر العمود الذى سُكّنت عليه خلايا الخميرة بنحو ٥٣-٦٣ يوماً ؛ وذلك في حالة الاستخدام التجارى، وهى فترة مناسبة جداً، تتيح استعمال العمود لفترةٍ طويلةٍ بكفاءةٍ عاليةٍ.

٤- إنتاج اللاكتونات Lactones :

تستخدم هذه المركبات بصفةٍ أساسيةٍ فى صناعة مكسبات الرائحة ومركبات النكهة المختلفة؛ مثل مشابهات الفاكهة، ومشابهات جوز الهند، ومشابهات الزبدة، ومشابهات المكسرات. وتتميز هذه المنتجات الفطرية بانخفاض تكاليف إنتاجها، مع اعتبارها منتجاً طبيعيّاً.

ويرجع الفضل فى بداية إنتاج هذه المواد إلى مجموعة الباحثين: **van der Van** ، و **Muys** ، و **Dejonge** عام ١٩٦٢ ، وذلك بإنتاجهم مركب جاما ودلتالاكتون؛ باستخدام فطر الخميرة ***Saccharomyces cerevisiae*** فى معامل شركة **Unilever** بهولاندا. وتنتج هذه المركبات حديثاً باتباع تقنية الخلايا المسكنة.

٥- استخدام الفطريات فى تحسين نكهة الأغذية:

بالإضافة إلى استخدام بعض الفطريات فى إنتاج مركبات النكهة التى تستخدم كإضافاتٍ طبيعيةٍ للأغذية، فإنها تستخدم أيضاً فى تحسين نكهة بعض الأغذية، أو فى إزالة نكهاتٍ غير مرغوبةٍ ناتجةٍ عن وجود مركباتٍ معينةٍ فى بعض المواد الغذائية.

فعلى سبيل المثال، تحتوى بعض ثمار الموالح - مثل البرتقال، والجريب فروت - على بعض المركبات ذات الطعم المر؛ مثل الليمونين **limonin**، والنوميلين **nomillin**، والنارينجين **naringin**، وكلها عبارة عن مركبات ليمونيدات **limonids** أو فلافونويدات **flavonoids**.

وتختلف هذه المركبات عن مركب الليمونين **limonin** فى احتوائها على مجموعة كربونيل حرةٍ على ذرة الكربون رقم ١٨ ، ومجموعة هيدروكسيل حرة على

ذرة الكربون رقم ١٧ . وتتكون مثل هذه المركبات فور استخلاص العصير، وتسبب خسائر فادحةً لمصانع إنتاج عصائر البرتقال والجريب فروت.

ولقد وجد أن بعض سلالات الفطر ***Aspergillus niger*** والفطر ***Coniella diplodiella*** تفرز إنزيم **naringinase**؛ الذى يحول المركب **naringin** ذا الطعم المر فى الجريب فروت إلى مركب **naringenin** عديم المرارة.

وقد قام الباحثان **Masegawa & Maier (1985)** بعمل تسكينٍ للخلايا الفطرية (الهيفات) على عمودٍ؛ بحيث يمر عليه العصير؛ فتتم إزالة المرارة منه على الفور. وعادةً ما يستخدم هذا العمود عدداً من المرات تصل إلى ١٥–٢٠ مرةً قبل إعادة تجديده بخلايا الفطر.

سابعاً : إنتاج الصبغات:

يتجه العالم حديثاً إلى استخدام الصبغات الطبيعية **natural dyes** المستخرجة من النباتات والأحياء الدقيقة فى عمليات تصنيع الأغذية وتعبئتها؛ مما يضمن سلامة هذه الأغذية صحيّاً.

ولكن عادةً ما تخضع مثل هذه الصبغات الطبيعية إلى دراسات عميقةٍ لبيان مدى صلاحيتها للاستخدام الآدمى؛ نظراً لأن بعضها ضار بالصحة، وقد يكون سامّاً؛ لذا فإن عدد الصبغات ذات الأصل الميكروبى المسموح باستعمالها فى التصنيع الغذائى قليل نسبيّاً.

ومن أهم أمثلة هذه الصبغات، إنتاج الصبغة الحمراء من خميرة ***Phaffia rhodozyma***، ومن الفطر ***Monoascus purpureus***، ومن تخمير عصير البنجر باستعمال فطر الخميرة ***Candida utilis***؛ حيث يتم تركيز الصبغة، والتخلص من النتريت، وبعض المركبات الأخرى غير المرغوبة.

وتعرف الصبغة الحمراء التى تنتجها خميرة ***P. rhodozyma*** باسم **astaxanthin** **(3,3' - dihydroxy - ß - ß carotin - 4- 4' di-one)**. وينتشر هذه المركب فى المملكة الحيوانية، ملوناً ريش النعام، وقشور الجمبرى، والمحاريات، وأسماك السلمون، وأسماك الزينة، ولكنه نادر الوجود فى الأحياء الدقيقة.

ويفرز فطر الخميرة السابق هذه الصبغة الحمراء تحت ظروف التهوية الجيدة، وذلك عند نموه على بيئةٍ غذائية تحتوى على السللوبيوز. وتنتج هذه الصبغة فى طور النمو اللوغاريتمى، بينما ينخفض إنتاجه لها عند طور الثبات.

ومن ناحيةٍ أخرى يستخدم الفطر ***Monoascus purpureus*** فى إنتاج نبيذ الأرز

الأحمر **red rice wine** منذ زمنٍ طويلٍ؛ وذلك باتباع تقنية تخمر المواد الصلبة. وتتميز الصبغة الناتجة من هذا الفطر بأنها خليط من اللون الأحمر والأصفر والبنفسجى، وهى تتركب من خليطٍ من الكيتيدات المعقدة **polyketides** التى لاتذوب فى الأحماض؛ حيث تتكون داخل الخلية الفطرية من خلال دورات التمثيل الغذائى الثانوية التى تشبه فى مساراتها تخليق الأحماض الدهنية.

وعادةً ما يتم اتباع طريقة تخمر المواد الصلبة عند إنتاج هذه الصبغة؛ حيث تُنتج كميات منها تفوق ما يمكن إنتاجه باتباع طريقة تخمر البيئة السائلة بنحو عشرة أضعاف. ومازالت الأبحاث العلمية جاريةً لتطوير إنتاجية الفطر المنمى فى البيئة السائلة من هذه الصبغة.

ولقد أظهرت بعض الدراسات - التى أجريت فى هذا المجال - أهمية النسبة بين الجلوكوز وأملاح الأمونيوم فى البيئة السائلة المستخدمة فى إنماء الفطر ***M. purpureus*** وإنتاج الصبغة الحمراء، كما أن هناك محاولاتٍ لنقل الجينات المسئولة عن إنتاج اللون فى الفطر السابق إلى كائناتٍ حيةٍ أخرى؛ باتباع تقنية الهندسة الوراثية.

وحالياً يتم إنتاج أرزٍ متخمرٍ **fermented rice** باستخدام الفطر السابق بطريقة تخمر المواد الصلبة؛ مما ينتج عنه أرز ملون باللون الأحمر. ويستخدم هذا النوع من الأرز - بعد تجفيفه - كإضافةٍ غذائيةٍ طبيعيةٍ فى تصنيع بعض المواد الغذائية؛ مثل منتجات اللحوم؛ كاللانشون، والهمبورجر.

وأيضاً يستخدم فطر الخميرة ***Candida utilis*** فى زيادة تركيز الصبغة الحمراء للبنجر؛ وذلك عند إنمائه على مستخلص البنجر؛ حيث ينمو هذا الفطر على هذا المستخلص عند رقم حموضة ٥,٠ وعلى حرارة ٣٠°م؛ مستهلكاً السكروز والبروتينات الذائبة خلال تخميره للبيئة.

وتحتاج عملية التخمر إلى نحو ١١٠ دقيقة لكل ١٪ من تركيز السكر الموجود

بالمستخلص، وبعد ذلك يتم التخلص من خلايا الخميرة (الكتلة الحيوية) عن طريق الطرد المركزى، ثم يركز المحلول الرائق تحت تفريغ إلى عُشْرِ الحجم الأصلى.

ويتم تحميض المحلول المركز - بعد ذلك - إلى رقم حموضة -٢,٠ ؛ وذلك بإضافة حمض الهيدروكلوريك، ثم يمرر هذا المحلول على عمود سيفادكس ج - ٢٥ (SephadexG25) للتخلص من الأملاح، وفى النهاية يترك المحلول المركز المحتوى على الصبغة ليجف.

ويحتوى المسحوق المجفف الناتج على ٥٥٪ من صبغة بيتاسيانين **betacyanine**. وتؤدى هذه الطريقة المتبعة للحصول على الصبغة الحمراء السابقة إلى خفض نسبة النترات، والتخلص من المركبات التى تعطى رائحة التربة.

وهناك أنواع أخرى من الصبغات التى يمكن الحصول عليها من بعض فطريات عيش الغراب البرية، حيث تستعمل فى صباغة الألياف القطنية والصوفية، والتى تصنع منها لوحات فنية أو ملابس ملونة بألوان طبيعية زاهية.

وتختلف الأنواع المستخدمة من فطريات عيش الغراب فى لون الصبغات التى يمكن الحصول عليها، فعلى سبيل المثال تستخدم الثمار الرفية للفطر ***Inonotus his-pidus*** للحصول على اللون البنى، بينما نحصل على الصبغات الحمراء والصفراء من الأنواع التابعة للجنس ***Cortinarius***.

وتوضح اللوحة الملونة رقم ١٦ - فى نهاية هذا الكتاب - نماذج من الأنسجة التى تمت صناعتها باستخدام خيوط قطنية وصوفية مصبوغة بصبغات طبيعية تم الحصول عليها من ثمار بعض فطريات عيش الغراب البرية.

وتستعمل مثل هذه الفطريات فى صباغة الخيوط الطبيعية المصنوعة من الصوف أو القطن أو الكتان أو الحرير، وتحتاج الخيوط القطنية عند صباغتها إلى حرارة عالية بعكس الحال عند صباغة خيوط الحرير.

جدول (٢٧) : بعض الصبغات التى يمكن الحصول عليها من ثمار بعض فطريات عيش الغراب البرية (انظر اللوحة الملونة رقم ١٦)

لــون الصبغـــة	اســـم الفطـــــر
١- فضي	*Daldinia concentrica*
٢- فضي لامع	*Fomes fomentarius*
٣- معدني (مثل الحديد)	*Gymnopilus penetrans*
٤- بني	*Inonotus hispidus*
٥- بنفسجي	*Hapalopilus nidulans*
٦- أحمر	*Amanita muscaria*

ويجب اختيار ثمار جيدة من فطريات عيش الغراب البرية، حيث يلعب عمر الثمرة ودرجة نضجها دوراً كبيراً فى تحديد لون الصبغة الناتجة منها؛ فالثمار الصغيرة والمتقدمة فى العمر ينتج عنها صبغات باهتة لاتحقق نجاحاً جيداً فى صبغ الألياف. كما يجب استخدام الثمار طازجة.

ويتم استخلاص الصبغة من ثمار عيش الغراب؛ وذلك بنقع كل نوعٍ منها منفرداً فى حوضٍ من الصلب غير القابل للصدأ لمدة حوالى ساعة مع التقليب، ثم تغمر الخيوط فى محلول الصبغة لحوالى ساعة أخرى حتى يتم تشرُّب اللون. وقد تحتاج بعض الصبغات إلى وسطٍ حامضيٍّ لتثبيتها؛ لذا ينصح بإضافة قليلٍ من الخل إلى منقوع اللون.

وتتميز كثير من ثمار أنواع عيش الغراب البرية بألوانها الزاهية، التى يمكن استعمالها فى الصباغة؛ مثل الأنواع التابعة للجنس ***Boletus*** ذات الألوان الصفراء

والخضراء والبرتقالية والبنية،، بينما يمكن الحصول على اللون الأصفر والأخضر من ثمار فطر عيش الغراب ***Hypholoma fasiculare***.

وفى بعض الأحيان تتم إضافة بعض المعادن للتحكم فى لون الصبغة المراد الحصول عليها من مستخلص ثمار فطر عيش الغراب، كما هى الحال فى فطر ***Inonotus hispidus***، الذى يعطى لوناً أصفر مع الزنك ولوناً أخضر مع الحديد ولوناً بنيّـاً مع النحاس.

كما تلعب حموضة محلول استخلاص اللون دوراً هاماً فى تحديد لون الصبغة الناتجة؛ فعلى سبيل المثال يعطى مستخلص ثمار الفطر ***Paxillus atrotomentosus*** لون أخضر مع الألومنيوم فى الوسط الحامضى، بينما يعطى مستخلص ثمار الفطر ***Thelephora palmata*** مع الألومنيوم لوناً أزرق فى نفس الوسط.

ومعظم الصبغات الناتجة من ثمار فطريات عيش الغراب غير سامة، ولكن هذه ليست قاعدةً؛ لأن بعض هذه الصبغات شديدة السمية، كما هى الحال فى الصبغة الزرقاء – وهى عبارة عن حمض ***polyporic acid*** – الناتجة من بعض الأنواع التابعة للجنس ***Thelephora***.

ونظراً لعدم توفر كمياتٍ كبيرةٍ من ثمار عيش الغراب الملونة التى يمكن الحصول منها على صبغات، فإن هذه الصبغات نادرة واستعمالها مكلف. ولكن يعمد الهواة إلى جمع هذه الثمار واستعمالها فى صبغ الخيوط القطنية أو غيرها من الألياف الطبيعية التى تستعمل فى صناعة لوحاتٍ فنيةٍ جداريةٍ أو بعض الملابس الزاهية الألوان، والتى تباع بأسعارٍ عاليةٍ.

ثامناً : إنتاج المشروبات الكحولية:

تعتبر المشروبات الكحولية من أقدم الأغذية المتخمرة – وخاصةً تلك المشروبات غير المقطرة **non distilled spirits** – التى أنتجها الإنسان فى الحضارات القديمة؛ حيث يعتقد أن المصريين القدماء هم أول من قام بتصنيع البيرة (الجعة) من تحليل نشا الحبوب منذ أكثر من سبعة آلاف عام.

وكانت صناعة البيرة – حينذاك – تشبه صناعة الخبز؛ حيث كانت تؤخذ حبوب الشعير وتوضع فى أوانٍ فخاريةٍ حتى يتم إنباتها، ثم تطحن، ويُصنع منها خبز، يبلل بالماء بعد ذلك، ثم يترك ليتخمر. وقد أطلق على البيرة الناتجة اسم «البيرة الحامضية (البوظة **boozah**)».

وفى عام ١٨٣٧ قام الباحث الألمانى **Schwann** بعزل فطر الخميرة وأطلق عليها اسم فطر السكر **(sugar fungus)** ***Saccharomyces***، ثم استكمل العالم الفرنسى لويس باستير دراسة نشاط هذا الفطر فى إنتاج النبيذ عام ١٨٦٦ ، وبعد ذلك فى إنتاج البيرة عام ١٨٧٦ .

وأوضح «باستير» فى دراساته السابقة أن فطر الخميرة هو المسئول عن التخمر وتحويل السكر إلى كحولٍ وثانى أكسيد الكربون، ثم قام «هانسن **Hansen**» بعد ذلك بعزل فطرى الخميرة ***Saccharomyces cerevisiae*** ***S. carlsbergensis***؛ وذلك فى معامل كارلسبرج فى كوبنهاجن، واستخدم هذه العزلات النقية فى إنتاج البيرة.

أما بالنسبة إلى المشروبات المقطرة **distilled spirits**، فيعتقد أنها بدأت فى الصين منذ حوالى ثلاثة آلاف عامٍ، ولكنها لم تنتشر بنفس سرعة انتشار المشروبات غير

المقطرة. وكانت هذه المشروبات المقطرة تستخدم كأدوية لعلاج عديدٍ من الأمراض حتى بداية القرن السابع عشر الميلادى، حين بدأ الفرنسيون فى تقطير عصير العنب لإنتاج البراندى **Brandy**.

ولقد تم تطوير صناعة المشروبات المقطرة بعد ذلك بواسطة الفرنسيين والاسكتلانديين خلال القرن التاسع عشر، ومازالت الفكرة الأساسية فى الأجهزة المستخدمة فى التقطير مستعملة فى إنتاج الويسكى الأسكتلاندى، والبراندى الفرنسى.

وسوف نستعرض – فيما يلى – بعض المشروبات الكحولية الشائعة الاستخدام.

١- المشروبات الكحولية غير المقطرة:

أ- البيرة Beer:

يستخدم فى صناعة البيرة مواد أساسية؛ هى : حبوب الشعير، والماء، وحشيشة الدينار، والسكر، والخميرة. وتتضمن عملية تصنيع البيرة الخطوات التالية:

*** تجهيز المولت malting:**

يتم تجهيز المولت بنقع حبوب الشعير فى الماء؛ لرفع نسبة الرطوبة بها إلى الحد الذى يسمح لها بالإنبات. وتستغرق مرحلة الإنبات ٣ – ٧ أيام على حرارة ٢٠°م – ٢٥°م؛ حيث تتوقف طول مرحلة الإنبات على نوع الشعير المستخدم.

والهدف من مرحلة إنبات حبوب الشعير تشجيع تخليق الإنزيمات المحللة؛ مثل إنزيمات **endo-ß- glucanase** و **α– amylase** و **peptidases**. وكذلك إذابة جدار أندوسبرم الخلايا؛ ومن ثم تحليل المحتويات الذائبة إنزيمياً إلى مواد ذات وزنٍ جزيئيٍ أقل.

ويؤدى إنبات حبوب الشعير إلى تحليل البروتينات المخزنة إلى ببتيداتٍ وأحماضٍ

أمينية؛ حيث تتم هذه التغيرات الحيوية الهامة خلال وقتٍ قصيرٍ نسبياً، ودون تكاليف كبيرةٍ.

ولقد وُجِدَ أن الحبوب غير النابتة تحتوى على إنزيم **ß-amylase**، بينما يتكون إنزيم **α– amylase** و **peptidases** أثناء الإنبات؛ وذلك تحت تأثير هورمون حمض الجبرليك المفرز من الجنين إلى طبقة الأليرون بالحبة أثناء الأربع والعشرين ساعةَ الأولى من فترة الإنبات.

ويجب تغيير الماء عدة مراتٍ خلال فترة إنبات حبوب الشعير، حتى تنتهى هذه المرحلة قبل ظهور الريشة. وتجفف الحبوب المستنبته لوقف النشاط الإنزيمى؛ حيث يتكون لون وطعم ورائحة مرغوبة فى النهاية . ويتم تجفيف الحبوب على حرارة ٥٠°م، ثم ترفع درجة الحرارة تدريجياً، مع خفض الرطوبة النسبية؛ وذلك لتجنب تغير طبيعة البروتين الإنزيمى وتصل درجة الحرارة النهائية المستعملة فى تجفيف حبوب الشعير إلى ٨٠°م فى المولت الفاتح، و ١٠٥°م فى المولت الداكن اللون.

*** إعداد مجروش المواد الخام واستخلاصه mashing:**

بعد تجفيف حبوب الشعير التى سبق استنباتها (المولت)، يتم جرشها مع بعض حبوب الشعير الأخرى غير المستنبتة، والتى قد تصل نسبتها إلى نحو ٣٠٪ من كمية الحبوب الكلية.

وقد تستخدم حبوب جافة لأنواعٍ أخرى غير الشعير؛ مثل : الأرز ، أو الذرة، أو القمح؛ حيث يهدف استخدامها إلى خفض تكاليف المنتج النهائى. ويفضل عدم نزع غلاف الحبة أثناء عملية الجرش قدر الإمكان؛ وذلك لأنها تساعد على سهولة عملية الترشيح.

ويتم استخلاص مجروش المواد الخام بإحدى طريقتين : الأولى عن طريق الاستخلاص دون غليانٍ **infusion mashing**؛ حيث تتم التحولات الحيوية كلها فى نفس الوعاء على حرارة ٦٥°م، وبعد ذلك ترشح، والطريقة الثانية: الاستخلاص

بالغليان **decontion mashing**؛ حيث تبدأ عملية الاستخلاص عند حرارة منخفضة نسبيًا (٤٠°م)، ثم ترفع تدريجيًا حتى تصل إلى ٧٥°م.

ويتم ذلك عن طريق أخذ جزءٍ من المستخلص وغليه، ثم إعادته مرةً أخرى إلى الجزء الأصلي. وتساعد عملية الغليان على تليين جدر الخلايا؛ مما يسهل عملية الاستخلاص. وتُكرر هذه العملية عدة مراتٍ، وبعد انتهائها ينقل المستخلص إلى وعاءٍ آخر للترشيح.

وتتميز الطريقة الأولى (الاستخلاص دون غليان) بإنتاج منتجٍ جيد النكهة ذى نسبة استخلاصٍ منخفضة، بينما تتميز الطريقة الثانية بإنتاج منتجٍ منخفض النكهة، فى حين تكون نسبة استخلاصه مرتفعةً. ويطلق على الناتج فى هذه الحالة «منقوع المولت **wort**».

ومن أهم العوامل المحددة لجودة منقوع المولت : جودة المولت المستخدم، وخواص الماء المستخدم، ونوع الحبوب الجافة المضافة، ودرجة الحرارة المستخدمة، ورقم حموضة الوسط، وتركيز مجروش المواد الخام.

*** غلى منقوع المولت وتبريده :**

يغلى منقوع المولت بعد ترشيحه فى غلايات؛ بهدف تثبيط جميع الإنزيمات المحللة، والتخلص من نشاط الأحياء الدقيقة به، واستبعاد الأيونات غير المرغوبة – مثل الكالسيوم – بترسيبها فى صورة أملاحٍ غير ذائبةٍ؛ مثل فوسفات الكالسيوم.

كما يؤدى غليان منقوع المولت إلى تركيزه، وكذلك إلى تغيير طبيعة البروتينات وترسيبها، وإلى إذابة السكريات المضافة، والتخلص من الروائح غير المرغوبة، واستخلاص المواد الذائبة من حشيشة الدينار **hop**، وأيضاً إلى كرملة السكريات لإعطاء اللون والنكهة المرغوبين فى الناتج النهائى.

ويستمر غلى منقوع المولت لمدة ساعتين أو أكثر، وأثناء ذلك يضاف محلول

السكروز أو الجلوكوز؛ وذلك للمساعدة على توفير سكرياتٍ قابلةٍ للتخمر بواسطة فطر الخميرة. ولكن يجب حساب هذه الإضافات بعنايةٍ؛ لأن زيادتها تؤدى إلى حدوث تخمراتٍ غير مرغوبةٍ تقلل من قيمة المنتج النهائى.

وتضاف حشيشة الدينار **hop(*Humulus upulus*)** أثناء الغليان على دفعاتٍ؛ بهدف إعطاء الطعم المر المميز للبيرة. وينتج هذا الطعم المر نتيجة تحول مركبات **humu-lone** – وهى أحماض من النوع ألفا – إلى الصورة الضوئية المشابهة (أيزو – ألفا) كما هو موضح فى شكل (١٠٦).

وتتميز هذه المركبات من النوع ألفا بعدم ذوبانها فى الماء، وعند تحولها إلى الصورة الضوئية المشابهة (أيزو – ألفا) تكون ذائبةً، وتعطى ذلك الطعم المرّ المألوف للبيرة. ويلاحظ أن الصورة الضوئية المشابهة (أيزو – بيتا) من نفس المركب ذات مرارةٍ أقل، ولا تستخدم فى صناعة البيرة.

α-Acids	R	β-Acids
HUMULONE	$CH_2CH(CH_3)_2$	LUPULONE
COHUMULONE	$CH(CH_3)_2$	COLUPULONE
ADHUMULONE	$CH(CH_3)CH_2CH_3$	ADLUPULONE

شكل (١٠٦) : تركيب الأحماض من نوع ألفا وبيتا الموجودة فى حشيشة الدينار.

وبعد تمام الغليان، والتأكد من تحول أقصى كميةٍ من الأحماض ألفا الموجودة فى حشيشة الدينار، يبرد منقوع المولت، وتفصل مخلفات حشيشة الدينار والأملاح المترسبة والمواد الأخرى غير الذائبة؛ وذلك عن طريق الطرد المركزى، وينقل منقوع المولت إلى خزانات التخمير.

*** التخمر Fermentation:**

يتم فى هذه المرحلة تلقيح منقوع المولت **wort** باللقاح الأولى (البادىء) من فطر الخميرة المناسبة. وتختلف كمية اللقاح، ودرجة حرارة التحضين ومدتها باختلاف سلالات الفطر المستخدمة، ونوع البيرة المراد إنتاجها.

وينتج أثناء تخمر المولت بفطر الخميرة - بصفةٍ عامةٍ - أكثر من ٦٠٠ مركبٍ مختلفٍ تسهم فى تحديد النكهة النهائية للبيرة الناتجة. ويوضح شكل (١٠٧) التعريفات المستخدمة لدى المحكمين؛ للحكم على طعم ورائحة أنواع البيرة المختلفة.

وترجع هذه النكهات المختلفة للبيرة الناتجة إلى تأثير فطر الخميرة على مكونات منقوع المولت (الورت **wort**) من المواد الكربوهيدراتية والأحماض الأمينية وغيرها من مواد تتكون تحت الظروف اللاهوائية.

وتنقسم الخمائر المستخدمة فى صناعة البيرة إلى أربعة أقسام تبعاً لقدرتها على التجمع **flocculation**:

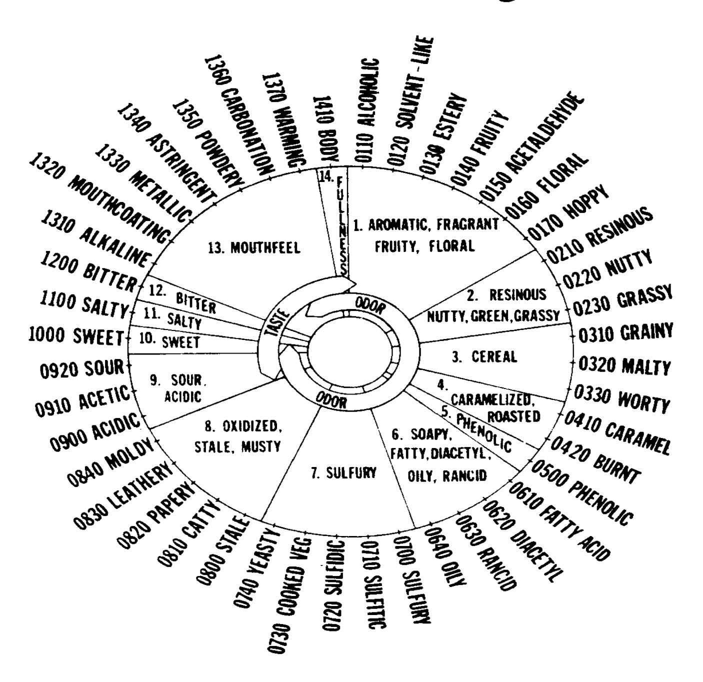
القسم الأول : خمائر ليست لها القدرة على التجمع، وتظل الخلايا معلقةً بمنقوع المولت حتى نهاية التخمر.

القسم الثانى : خمائر تتجمع بعد استهلاك نحو ثلثى السكريات القابلة للتخمر فى منقوع المولت وتكمل عملية التخمر، ويخلو الناتج النهائى نسبياً من خلايا الخميرة.

القسم الثالث: خمائر تشبه القسم السابق، ولكنها تتجمع بسرعةٍ فى صورةٍ متجبنةٍ

caseous، ويتبقى جزء من السكريات القابلة للتخمر فى منقوع المولت.

القسم الرابع : خمائر تتجمع خلاياها منذ بداية التخمر، وتستمر الخلايا الجديدة المتكونة متصلةً بالخلايا الأمية ولا تنفصل عنها؛ ومن ثم تطفو جميع خلايا الخميرة على سطح منقوع المولت، ولايكتمل تخمر جميع محتوياتها من السكريات.



شكل (١٠٧) : التعريفات المختلفة المستخدمة فى الحكم على طعم ورائحة أنواع البيرة المختلفة (عن Russel & Stewart, 1992).

وقد يطلق اسم التخمر القمى **top fermentation** على القسم الرابع، بينما يطلق على خمائر القسم الأول اسم «التخمر القاعى **bottom fermentation**»، إلا أن هذا التقسيم نسبى.

ويفضل استعمال خمائر القسم الأول فى تصنيع البيرة من النوع **Lager**، بينما تستعمل خمائر القسم الثانى فى تصنيع البيرة من النوع **Ale**.

ويستعمل فى صناعة النوع الأخير من البيرة (**Ale**) سلالات من الخمائر السطحية التابعة للفطر ***Saccharomyces cerevisiae***؛ وهى تتميز بإنتاجها رغاوى قشدية على سطح منقوع المولت أثناء تخمره. وتستغرق عملية التخمر ٣–٥ أيام على حرارة ٢٠°م.

أما صناعة البيرة من النوع **Lager**، فتستخدم فى صناعتها سلالات من الخمائر القاعية (المتخمرة عند قاع وعاء التخمر) التابعة للفطر ***S. carlsbergensis***. وتتميز هذه الخميرة بعدم إنتاجها للرغوة؛ حيث تترسب خلاياها عند قاع وعاء التخمر فى نهاية مرحلة التخمر التى تستمر ٧–١٤ يوماً على حرارة ٥°م–١٥°م.

وبعد هذه المرحلة من تخمر منقوع المولت، يطلق على ناتج التخمر اسم «البيرة الطازجة **green beer**»، والتى تمر – بعد ذلك – بعدة مراحل قبل أن تكون صالحةً للاستهلاك. وتضم هذه المراحل إزالة بعض المواد الطيارة، والتشبيع بغاز ثانى أكسيد الكربون، وفصل خلايا الخميرة (الكتلة الحيوية)، وإزالة بعض المركبات العديدة الفينول، وإزالة الشوائب العالقة، بالإضافة إلى إنتاج بعض المواد المنكهة.

وتستغرق فترة تعتيق البيرة عدة أسابيع على حرارة صفر – ١٠°م بالنسبة إلى النوع **Ale**، بينما تزداد هذه الفترة إلى عدة شهورٍ على حرارة صفر – ٣°م بالنسبة إلى النوع **Lager**.

وبعد انتهاء فترة التعتيق، تُجرى عملية الطرد المركزى بهدف إزالة خلايا الخميرة، ثم يضاف غاز ثانى أكسيد الكربون، وترشح البيرة الناتجة لإزالة الشوائب العالقة، وتعبأ

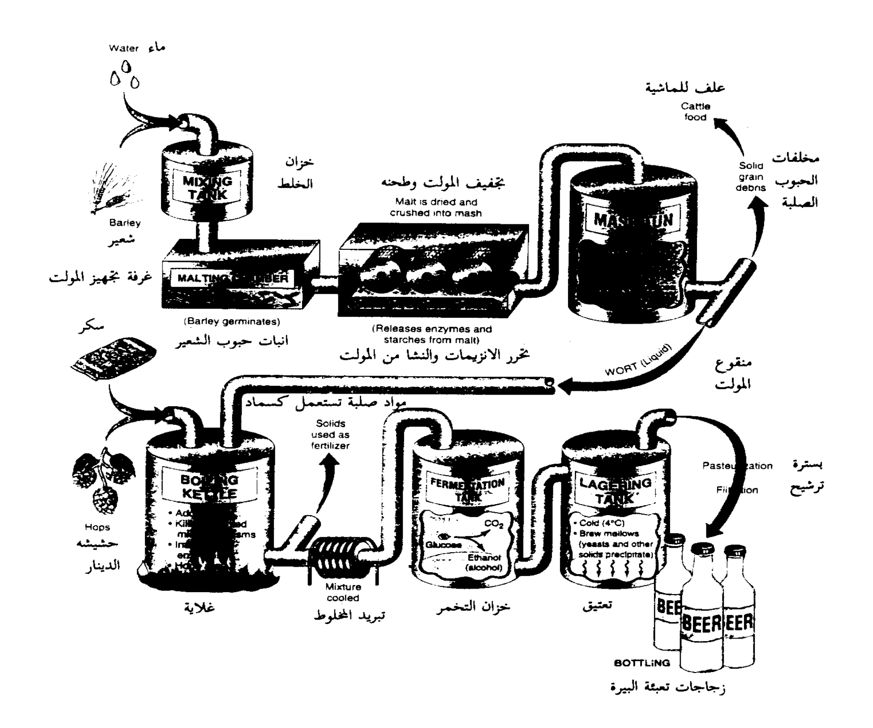
– بعد ذلك – فى زجاجاتٍ أو علبٍ معدنية. وتتم بسترة هذه العبوات لزيادة فترة صلاحيتها للتخزين.

ولقد استبدلت بعض مصانع إنتاج البيرة عملية التعتيق التقليدية، والتى تستغرق فترةً طويلةً نسبيًا تتراوح بين عدة أسابيع وعدة شهورٍ، بطريقةٍ أخرى هى التعتيق بالطريقة المستمرة، والتى تستغرق فترةً زمنيةً تتراوح بين ساعتين وثلاث ساعات فقط، منتجةً بيرةً جيدةً ذات نكهةٍ عاليةٍ.

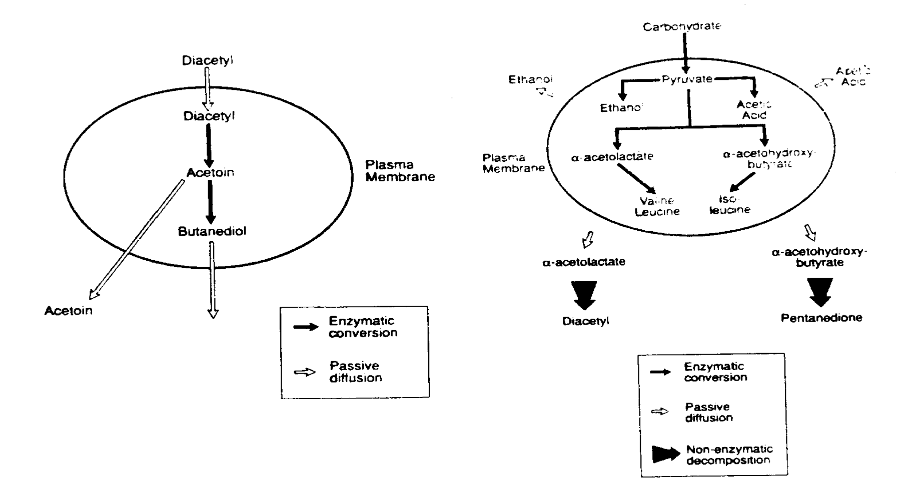
ويتم التعتيق بالطريقة المستمرة (لوحة ملونة رقم ٤)؛ وذلك عن طريق إجراء عملية الطرد المركزى لمحلول البيرة الطازجة **green beer**؛ لإزالة خلايا الخميرة، والشوائب العالقة، ثم يبستر المحلول، وبعد أن يبرد يمرر على عمودٍ مسكنةٍ عليه خلايا الخميرة التى تتم عن طريقها عملية التعتيق، وخاصة اختزال مركب داى استيل (شكل١٠٩)؛ لإعطاء النكهة المناسبة، ثم يتم ترشيح المنتج النهائى وتتم تعبئته.

ويمكن أيضاً إجراء عملية تخمر منقوع المولت نفسها بالطريقة المستمرة، بالإضافة إلى اتباع الطريقة نفسها فى تعتيق البيرة الطازجة. إلا أن هذه الطريقة مازالت غير منتشرةٍ على نطاقٍ واسعٍ.

وتحتوى البيرة من النوع **Ale** والنوع **Lager** على حوالى ٤ ٪ كحول إيثانول، إلا أن كلا النوعين يختلف فى الطعم واللون. وتحت كل نوعٍ منهما توجد أنواع فرعية، تختلف فى مواصفاتها؛ فعلى سبيل المثال، تختلف أنواع البيرة **Pilsner** و **Einbecker** و **Münich** بعضها عن بعضٍ، على الرغم من أنها جميعاً إنتاج ألمانى، بينما هناك أنواعٌ أخرى ترتفع فيها نسبة الكحول إلى ٦ ٪ أو أكثر؛ مثل بيرة **Stout** ذات اللون الداكن.



شكل (١٠٨) : مراحل صناعة البيرة.



(أ) : إنتاج مركب داى إسيتيل بواسطة الخميرة. (ب) : اختزال مركب داى إسيتيل فى البيرة بواسطة الخميرة.

شكل (١٠٩) : إنتاج مركب داى إسيتيل Diacetyl أثناء عملية التخمر بواسطة الخميرة، واختزاله أثناء عملية التعتيق بواسطة الخميرة. يلاحظ أن معدل الاختزال يصل إلى عشرة أضعاف معدل الإنتاج (عن Russell & Stewart, 1992).

ب- النبيذ Wine:

النبيذ هو العصير المتخمر للعنب الطازج *(Vitis vinifera)*. وتعتبر إيطاليا وفرنسا أكثر دول العالم إنتاجاً للنبيذ؛ حيث ينتجان وحدهما أكثر من ٩٠٪ من الإنتاج العالمى، والباقى تنتجه دول أخرى؛ مثل الولايات المتحدة، وأستراليا، ونيوزلندا، وإنجلترا.

ويفضل استعمال العنب المنزرع فى إيطاليا وفرنسا وجنوب ألمانيا فى صناعة النبيذ،

وذلك يرجع إلى موسم النمو الطويل خلال صيفٍ دافيءٍ تتراوح درجة حرارته بين ١٠°م و ٢٠°م؛ حيث يناسب ذلك إنتاج سكر الجلوكوز في الثمار، ولا تتكون أحماض عضوية.

وتتوقف جودة النبيذ على نوع العنب المستخدم ونوع التربة المنزرع بها، وطريقة الزراعة، والظروف البيئية التي يتعرض لها. ويتم حصاد العنب عند وصول نسبة السكر ودرجة الحموضة (مقدرة كحمض الماليك) ولون قشرة الثمار إلى الدرجة المناسبة.

ويتم عصر ثمار العنب دون هرس بذورها؛ وذلك لتجنب الطعم المر الذي ينتج عن ذلك. ويصل متوسط عصر طن ثمار العنب إلى حوالى ٦٢٥ لتر عصير. وينتج النبيذ الأحمر من عصر العنب الأسود الذي يحتوى على صبغة الأنثوسيانين **Anthocyanine** التي تنتقل من الثمرة إلى العصير.

ويعتبر عنب النبيذ ***Vitis vinifera*** أنسب أنواع العنب لصناعة النبيذ؛ وذلك للأسباب التالية:

* احتواء العصير على تركيزٍ عالٍ من المواد الغذائية التي تجعل منه بيئةً صالحةً لنمو الخمائر.
* احتواء العصير على حموضةٍ طبيعيةٍ مرتفعةٍ تعمل على تثبيط الأحياء الدقيقة الضارة وغير المرغوبة.
* ارتفاع تركيز السكر في العصير يؤدى إلى إنتاج تركيزٍ عالٍ من الكحول، يعمل - أيضاً - على تثبيط الأحياء الدقيقة وغير المرغوبة.
* احتواء هذا النوع من العصير على مركبات نكهةٍ قويةٍ تنتقل من العصير مباشرةً إلى المنتج النهائي.

وتتم إضافة ثاني أكسيد الكبريت (على هيئة مسحوق ميتابيسلفيت البوتاسيوم) على ثمار العنب قبل عصرها؛ وذلك لتثبيط أكسدة اللون إلى البني، وأيضاً لتثبط نمو

كثيرٍ من الأحياء الدقيقة غير المرغوبة، ولتوفير ظروفٍ لاهوائيةٍ خلال عملية العصر.

وبعد تمام عصر ثمار العنب، ينقل المهروس **must** الناتج إلى وعاء التخمر، ويضاف إليه اللقاح الأولى (البادىء) من فطر الخميرة ***S. cerevisiae (S. ellipsoide-us)***. ويراعى استخدام مزرعة نقية من الخميرة لإنتاج نبيذ عالي الجودة؛ حيث يتبع ذلك على مستوى الإنتاج التجارى، بينما تستعمل المعامل الصغيرة مزارع مختلطةً من فطريات الخميرة؛ منتجة نبيذاً أقل جودة.

وتتميز سلالات الخميرة المستعملة فى الإنتاج التجارى للنبيذ بتحملها للتركيزات العالية من الكحول والكبريت. وتتم عملية التخمر على حرارة ٢٥°م - ٢٩°م، وأحياناً تتم على ١٠°م. ويراعى عدم ارتفاع درجة الحرارة عن ٣٠°م، وإلا أدى ذلك إلى موت خلايا الخميرة المستعملة فى عملية التخمر.

وتستغرق عملية التخمر نحو ٣-٥ أيام بالنسبة إلى النبيذ الأحمر، وحوالى ٧ أيام - ١٤ يوماً بالنسبة إلى النبيذ الأبيض. وتتكون مركبات النكهة خلال مرحلة التخمر بواسطة الخميرة، وتختلف هذه المركبات عن تلك الموجودة طبيعياً فى عصير العنب الخام؛ وعلى ذلك فإن نكهة المنتج النهائى للنبيذ هى محصلة ما أنتجته الخميرة من نكهاتٍ، بالإضافة إلى نكهة العنب الطبيعية.

وبعد انتهاء عملية التخمر يتم ترشيح العصير المتخمر، وتستبعد الرواسب - بما فيها خلايا الخميرة - وكذلك الشوائب العالقة. ويعبأ العصير المتخمر فى براميل خشبيةٍ؛ بحيث تملأ البراميل حتى نهايتها؛ بحيث لاتحتوى بداخلها على هواءٍ، ثم تغلق جيداً. ويراعى إحكام إغلاق البراميل؛ لضمان عدم تسرب الهواء إلى العصير المتخمر؛ حتى لايتكون حمض خليك تحت الظروف الهوائية. وتخزن هذه البراميل على حرارة ١٥°م - ١٨°م لمدةٍ طويلةٍ تختلف تبعاً لنوع الناتج النهائى المرغوب.

وبعد انتهاء فترة التخزين فى البراميل الخشبية، يرشح النبيذ الناتج، ثم يعبأ فى زجاجاتٍ خاصةٍ ، وتخزن هذه الزجاجات على حرارة ١٠°م - ١٥°م لمدد طويلة قد

تصل إلى عشرات السنين. ويعتبر التخزين الطويل فى هذه الحالة نوعًا من أنواع التعتيق للأصناف الممتازة.

والنبيذ الرخيص تتم تعبئته فى نفس عام التصنيع، فى حين تترك الأنواع الأخرى المرتفعة الثمن لتتعتق فى البراميل الخشبية عدة سنواتٍ، ثم فى الزجاجات لسنواتٍ أخرى طويلةٍ.

ويعتبر نبيذ المائدة **table wine** من الأنواع المعتقة؛ حيث يحتوى على ٩–١٥٪ كحولاً، بينما تقل نسبة المواد الكربوهيدراتية فيه إلى نحو ٠,٣٪ أو أقل. ويلاحظ أن ارتفاع المواد الكربوهيدراتيه عن النسبة السابقة فى النبيذ تساعد على نمو البكتيريا فيه؛ مما يؤدى فى النهاية إلى تلف النبيذ.

ولقد وجد أن بعض أنواع بكتيريا حمض اللاكتيك يمكنها النمو على النبيذ خلال فترة التعتيق؛ حيث تخمر حمض الماليك الموجود طبيعيًا فى عصير العنب إلى حمض لاكتيك. ويعتبر هذا التحول الحيوى مرغوباً فى بعض أنواع النبيذ، ولكن يمكن تثبيطه بإضافة ثانى أكسيد الكبريت أو حمض الفيوماريك إلى النبيذ الطازج قبل تعتيقه إذا رغب المنتج فى ذلك.

جـ- الشمبانيا Champagne:

تعتبر الشمبانيا نبيذاً محتوياً على كمياتٍ كبيرةٍ من ثانى أكسيد الكربون تجعله فواراً **sparkling wine**. وتُصنَّع الشمبانيا فى شمال فرنسا من النبيذ الأبيض المحتوى على ثانى أكسيد الكربون؛ وذلك باستخدام سلالاتٍ خاصةٍ من فطر الخميرة ***Saccharomyces ellipsoideus***، تتميز بتحملها ثانى أكسيد الكربون؛ الذى يعمل على تكوين رواسب مرغوبةٍ فى زجاجات الشمبانيا.

وتضاف – عادةً – كمية من السكروز أثناء تعبئة الشمبانيا فى زجاجاتها، ثم تخزن هذه الزجاجات لفترةٍ، ثم تفتح لإزالة طبقة خلايا الخميرة المتكونة على السطح بعد رَّجها، ثم تغلق بعد ذلك بسداداتٍ فلينيةٍ.

وفى هذه المرحلة يتكون غاز ثانى أكسيد الكربون على هيئة **ethyl pyrocarbon-atene**، وهذا يعطى الصفة المميزة للشمبانيا المتلألئة بفقاعات غاز ثانى أكسيد الكربون المتكونة طبيعياً. وفى الأنواع الرخيصة من الشمبانيا، يتم دفع غاز ثانى أكسيد الكربون صناعياً فى الزجاجات، ولكن هذا لايعطى الفوران الطبيعى المميز للشمبانيا الجيدة.

د - النبيذ المدعم Fortified wine:

يقصد بالدعم إضافة كحول الإيثانول إلى نبيذ العنب بغرض رفع نسبة الكحول إلى أكثر من ٢٠٪. ومن أشهر المشروبات الكحولية التابعة للنبيذ المدعم : الشيرى **Sherry**، والبورت **Port**، والماديرا **Madeira**.

ويتم تصنيع الشيرى من عنب صنف **Palomeno**؛ الذى تتميز ثماره بحموضتها المنخفضة؛ حيث يتم تجفيف هذه الثمار شمسياً لمدة ٢٤ ساعةً؛ لزيادة الكثافة النوعية للعصير الناتج. وبعد ذلك تنزع أعناق الثمار، وتضاف على حبات الثمار كبريتات كالسيوم، وطرطرات بوتاسيوم، وأحياناً يضاف ثانى أكسيد الكبريت، ثم تعصر لإزالة الجلد والمواد الصلبة الأخرى.

وينتج من عصر العنب عصير ذو كثافة نوعية ١,٠٨٥ - ١,٠٩٥، وحموضة ٠,٣٥ - ٠,٤٥٪ مقدرةً كحمض طرطريك. ويحتوى عصير العنب على تانينات بتركيز ٣٠٠ - ٦٠٠ ملليجرام لكل لتر.

ويتم تخمير العصير طبيعياً؛ وذلك على حرارة ٢١°م لمدة ٤٨ ساعة، ثم يضاف كحول الإيثانول ٩٥٪؛ لرفع نسبة الكحول بالعصير إلى ١٤,٥٪ - ١٥,٥٪. ويتم تحضين العصير بعد ذلك فى براميل خشبية، تحت ظروفٍ لاهوائيةٍ؛ وذلك لكى تنمو الخميرة على السطح.

ويعتقد أن فطر الخميرة ***Saccharomyces oviformis*** هو الذى يستخدم كحول الإيثانول والجلسرول فى إنتاج مركبات النكهة المميزة؛ حيث يستغرق ذلك نحو ستة

شهور، بعد ذلك تعدل نسبة الكحول مرةً أخرى إلى ١٥٪ – ١٨٪، ثم يعاد تحضين الشيرى مرةً أخرى لعدة شهور.

وبعد انتهاء فترة التحضين، يتم ترشيح الشيرى للتخلص من الشوائب العالقة، ثم يعبأ فى زجاجاتٍ. وفى بعض الأحيان يضاف السكروز إلى الشيرى؛ حتى يصبح ذا طعمٍ حلوٍ **sweet sherry**، وربما لايضاف إليه سكر؛ حيث يعرف باسم **"dry sherry"**.

وفى بعض الأحيان، تضاف بعض المستخلصات النباتية إلى النبيذ المدعم؛ حيث يعرف فى فرنسا باسم «فرموث **Vermouth**»؛ وهو نبيذ أبيض لايحتوى على سكر، وقد يصنع من النبيذ الأحمر؛ مثل الفرموث الإيطالى.

هـ- المشروبات الكحولية المصنعة من التفاح والكمثرى:

تستخدم كلمة سيدر **cider** لوصف الناتج المتخمر من عصير التفاح ***(Malus pumila)***. أما كلمة سيدر **syder** فيقصد بها عصير التفاح غير الكحولى (غير المتخمر)، وهى تساوى عصير التفاح الطبيعى النقى **pure natural apple juice**.

ويطلق على المشروب الكحولى فى الولايات المتحدة **hard cider**، بينما يطلق على المشروب غير الكحولى **fresh cider** أو **farm cider** أو **sweet cider**. أما فى الدول الأخرى فتطلق كلمة **cider** على المشروب الكحولى، بينما يسمى المشروب غير المتخمر عصير التفاح.

ويتم تحضير السيدر **cider** (شمبانيا التفاح) من عصير التفاح النقى، أو من مخلوط عصير التفاح والكمثرى. ولاتضاف إلى هذا العصير أية مواد سكرية أخرى سوى سكر القصب أو البنجر (السكروز). كما لاتضاف أية مواد أخرى إلى العصير؛ مثل: الأحماض العضوية، أو الطعوم الصناعية، أو ثانى أكسيد الكربون، أو أية مواد حافظة، ولا حتى مواد ملونة.

ويجهز العصير عن طريق هرس ثمار التفاح (أو التفاح والكمثرى) وتحويلها إلى عجينة؛ حيث يستخلص العصير بعد ذلك بالضغط الهيدروليكى أو بالطرد المركزى، ثم

يعدل تركيز العصير إلى التركيز الطبيعى عن طريق إضافة الماء إذا كان العصير مركزاً، أو إضافة سكروز وحمض ماليك إذا كان العصير مخففاً.

ويضاف غاز ثانى أكسيد الكربون لوقف إنزيمات الأكسدة التى تحتاج إلى الأكسوجين فى عملها، وأيضاً لتثبيط نشاط بعض أنواع البكتيريا المسببة للفساد. ويضاف اللقاح الأولى (البادىء) من خميرة ***S. cerevisiae***، ثم يترك العصير؛ ليتخمر على درجة حرارة الغرفة لفترة تتراوح بين أسبوعٍ واحدٍ وأربعة أسابيع، حتى تتخمر جميع السكريات القابلة للتخمر.

وبعد انتهاء مرحلة التخمر، تتم تنقية العصير المتخمر بالطرد المركزى، ثم يخزن العصير تحت ظروفٍ لاهوائية. وبعد ذلك يبستر الناتج النهائى، ويضاف إليه ثانى أكسيد الكربون، ويعبأ بعد ذلك فى زجاجاتٍ. وفى بعض الحالات، يعدل تركيب مكونات السيدر قبل الترشيح، ثم يبستر بعد ذلك ويعبأ.

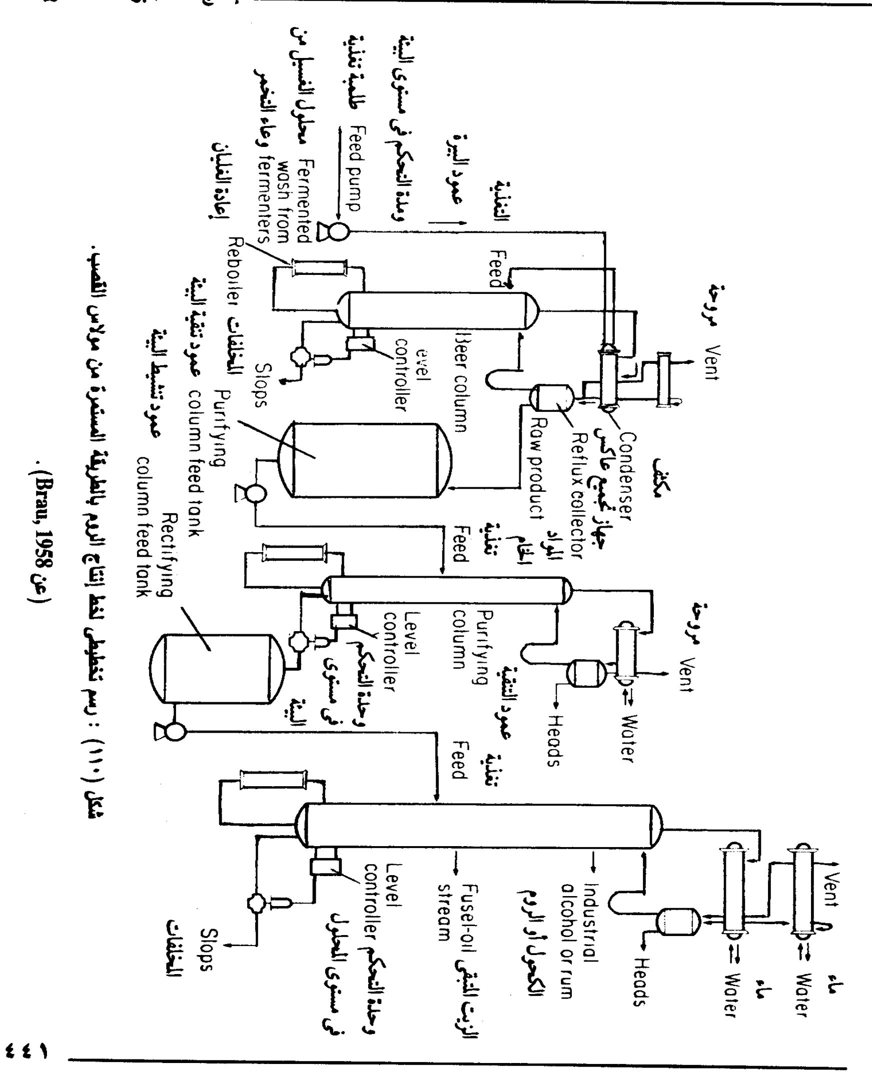
ويحتوى السيدر على حوالى ٤ ٪-٦ ٪ كحولاً، فإذا زادت النسبة إلى ٧,٥ ٪ - ٨ ٪ كحولاً أطلق على الناتج اسم «شمبانيا السيدر **champagne cider**».

ولا تقتصر صناعة النبيذ على العنب والتفاح والكمثرى، ولكن تمكن صناعته من ثمار فاكهةٍ أخرى؛ مثل : الفراولة ، والكريز، والخوخ، والبرقوق، والبلح، وأيضاً من عسل النحل.

٢- المشروبات الكحولية المقطرة Distilled alcoholic beverage :

أ- الروم Rum:

يصنع الروم من سكر القصب (المولاس)؛ الذى يكون تركيز السكر به حوالى ١٠ ٪-١٢ ٪ ، والمواد النيتروجينية ٢ ٪-٢,٥ ٪، ويتراوح رقم حموضته بين ٥,٥ و ٥,٨. وتتم إضافة الخميرة ***S. cerevisiae*** والتحضين على حرارة ٢٨°م-٣٢°م لمدة ٢٨ - ٤٨ ساعة.



شكل (١١٠) : رسم تخطيطي لخط إنتاج الروم بالطريقة المستمرة من مولاس القصب.
(عن Brau, 1958).

ويوضح شكل (١١٠) الطريقة المستمرة لإنتاج الروم؛ حيث يتكون خط الإنتاج من ثلاثة أعمدة، يطلق على العمود الأول «عمود البيرة **beer column**»؛ ويستخدم فى إزالة الكحول من سائل التخمر **fermented wash**؛ حيث تحتوى الأبخرة الناتجة من هذا العمود على الشوائب القابلة للتطاير، والتى تتبخر مع الكحول.

ويتم تكثيف جزء من الكحول المتطاير، ويسترجع مرةً أخرى، بينما يذهب الجزء الآخر إلى خزان الإضافة **feed tank**؛ حيث يتجه إلى عمود التنقية **purifying column**. ويخفف سائل المتقطر الخام **raw distillate** بالماء قبل دخوله إلى عمود التنقية؛ بحيث يكون تركيز الكحول فيه حوالى ٢٠٪ – ٥٠٪.

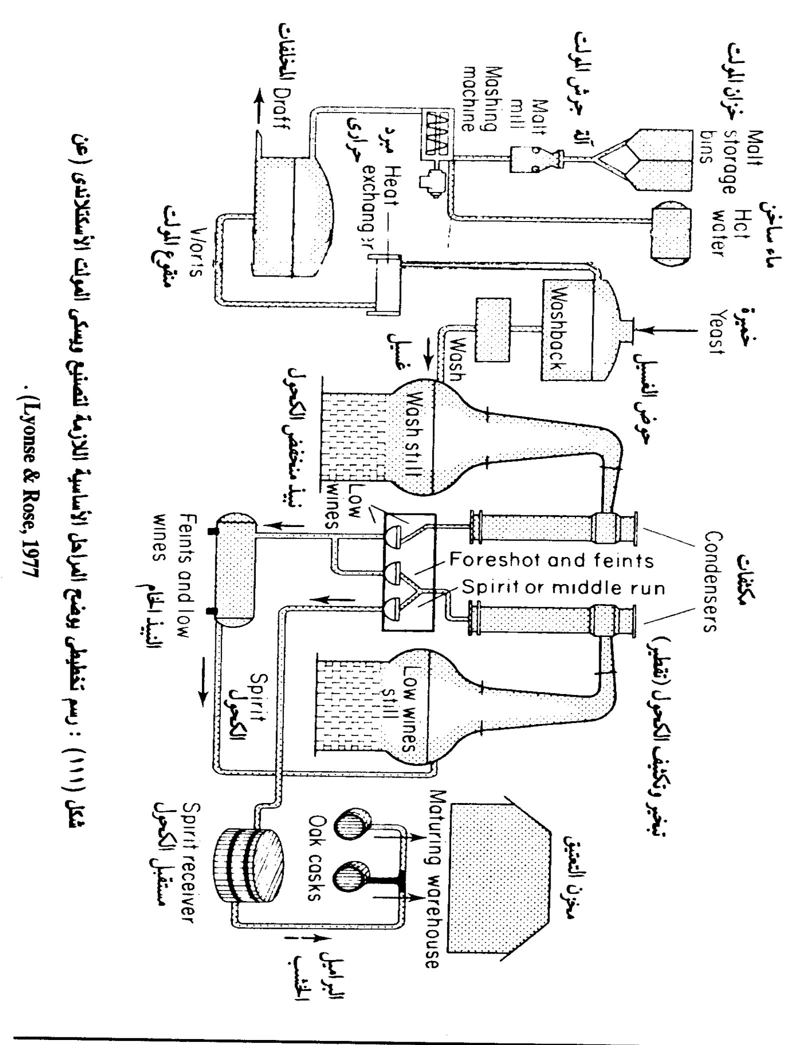
وتتجمع الشوائب الخفيفة – ذات الوزن الجزيئى الصغير – عند قمة عمود التنقية؛ حيث يتم التخلص منها، بينما يتجمع الكحول أسفل العمود ؛ حيث يتم نقله إلى العمود الثالث الذى يطلق عليه اسم عمود إعادة التقطير **rectifying column**؛ والذى يستخدم لتركيز الكحول إلى التركيز المناسب، ولإزالة ما تبقى من شوائب.

ويتم الحصول على المنتج النهائى (الروم) من أعلى العمود، بينما تتبقى فى وسط العمود طبقة زيتية متبقية **fusel oil** تعتبر ناتجاً ثانوياً متخلفاً عن هذه الصناعة، وتتم الاستفادة منها فى بعض الصناعات الجانبية، أو فى بعض الأغراض المعملية.

ويجمع الروم الخام، ويتم تخزينه فى براميل خشبيةٍ بغرض التعتيق؛ لفترة تتراوح بين سنتين وعشر سنواتٍ، وقد تصل إلى خمسة عشرة سنةً. ويتميز الروم باحتوائه على عديدٍ من الكحولات المختلفة والأسترات والمواد النيتروجينية واللاكتونات.

ب- الويسكي Wisky:

يصنع الويسكى عن طريق الاستخلاص المائى بدون حرارةٍ للكحول من مولت الشعير، أو من الحبوب الأخرى التى يتم تخميرها باستخدام فطر الخميرة *S. cerevisiae*. ويختلف الويسكى فى إنتاجه من دولةٍ إلى أخرى، تبعاً للمواد الخام المستخدمة فى تصنيعه، وطريقة التقطير. ويمكن اعتبار الويسكى ناتج تقطير البيرة غير المضاف إليها حشيشة الدينار **unhopped beer**.



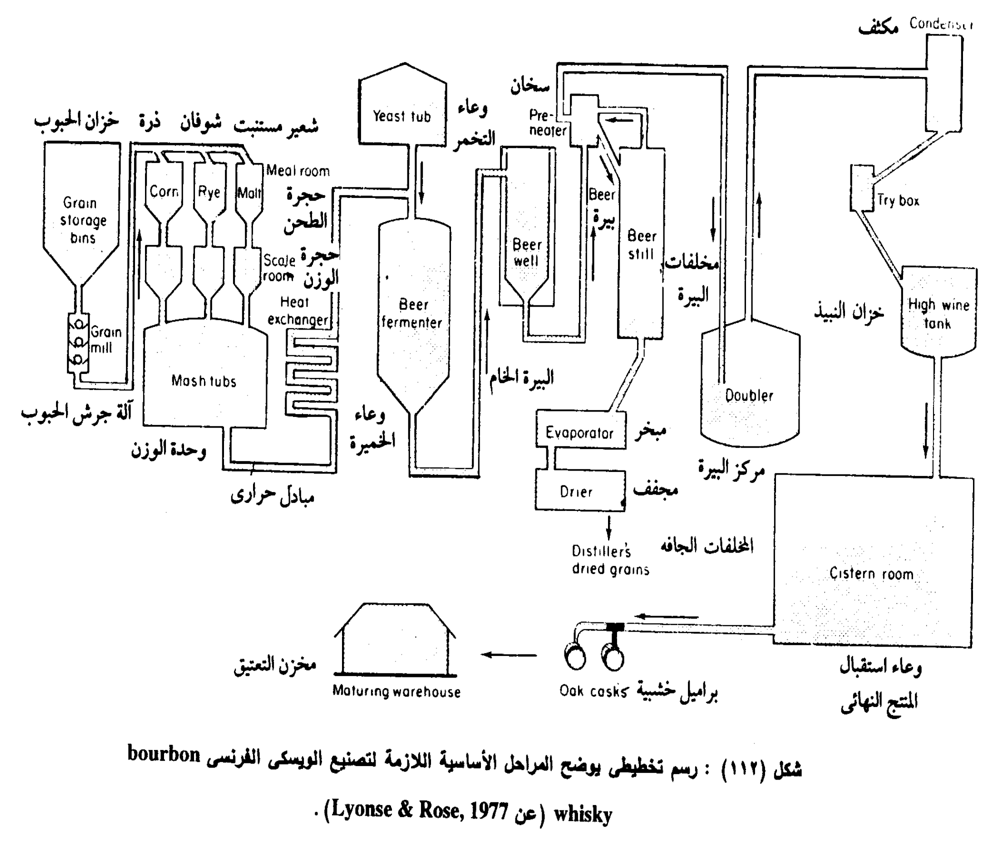
شكل (١١١) : رسم تخطيطي يوضح المراحل الأساسية اللازمة لتصنيع ويسكي المولت الأسكتلندي (عن Lyonse & Rose, 1977).

ويتم تصنيع الويسكى الأسكتلاندى (شكل١١١) من مولت الشعير، بينما يصنع الويسكى الفرنسى (شكل١١٢) من خليطٍ من الحبوب، ثم يبدأ الاستخلاص بدون غليانٍ فى النوع الأسكتلاندى، وبالغليان فى النوع الفرنسى.

ويبرد منقوع المولت (**wort**) ، وتضاف إليه الخميرة ***S. cerevisiae*** فى وعاء التخمر (**fermentor**) **washbacks**؛ حيث يتم التخمر حتى الوصول إلى محلول وزنه النوعى –١,٠، ويتم بعد ذلك تقطيره على عدة مراحل : المرحلة الأولى فى **wash still** فى الطريقة الأسكتلاندية، أو فى **beer still** فى الطريقة الفرنسية (شكلا١١١و١١٢)؛ وذلك لفصل ما يتبقى من المولت؛ حيث يستخدم فى صناعة الأعلاف.

وتجمع نواتج تقطير منقوع المولت، وتعبأ فى براميل خشبيةٍ مصنوعةٍ من خشب البلوط؛ حيث تخزن بها لفتراتٍ تختلف باختلاف القواعد المتبعة من دولةٍ إلى أخرى؛ حيث تصل فترة التخزين إلى سنةٍ واحدةٍ على الأقل فى النوع الفرنسى، بينما لاتقل عن ثلاث سنواتٍ فى النوع الأسكتلاندى.

ويمكن التمييز بين المشروبات الكحولية المقطرة بعضها عن بعض عن طريق اللون، فعلى سبيل المثال نجد أن الويسكى والروم والبراندى يتراوح لونها بين البيج الفاتح والبنى الداكن، فى حين أن الجن **Gin** والفودكا **Vodka** عديما اللون.



شكل (١١٢) : رسم تخطيطى يوضح المراحل الأساسية اللازمة لتصنيع الويسكى الفرنسى bourbon whisky (عن Lyonse & Rose, 1977).



الباب العاشر

دور الفطريات فى التقنية الحيوية الطبية



دور الفطريات فى التقنية الحيوية الطبية

أولاً: إنتاج المضادات الحيوية والمنتجات الأخرى المفيدة طبيًّا

يعود استخدام النموات الفطرية فى معالجة الجروح الملوثة بالبكتيريا (المتقيحة) إلى الحضارات الإنسانية القديمة منذ قرونٍ طويلة مضت؛ حيث كان العلاج بفطريات العفن **mould therapy** –فى ذلك الوقت– نوعًا من التراث الشعبى، دون أن يكون له أى أساسٍ علمىّ.

وعلى الرغم من ذلك، فإن هناك مايثبت أن أجدادنا القدماء كانوا يختارون –بعنايةٍ– نوع فطر العفن الواجب استخدامه لمعالجة الحالات المختلفة للجروح المتقيحة والملوثة بالبكتيريا.

كما استخدمت بعض ثمار فطريات عيش الغراب فى علاج الجروح؛ مثل فطر عيش غراب الحقل من الجنس ***Agaricus***؛ الذى كان يستعمل فى علاج الالتهابات الجلدية؛ حيث اكتشف مؤخراً احتواء الفطر ***A.nebularis*** على المضاد الحيوى **nebu-larine** المثبط لنمو الميكوباكتيريا **(Milton et al., 1992)**.

HOCH$_2$ O N N N N H H H H HO OH

شكل (١١٣) : التركيب الكيميائى للمضاد الحيوى نيبولارين.

وكذلك استخدمت الكرات النافخة العملاقة **gaint puff bals** كعلاج شعبيٍّ ناجحٍ لوقف النزيف الدموى؛ حيث كانت تخلط هذه الثمار بعد هرسها بالثوم، ثم يوضع المخلوط على الجروح؛ فيوقف تدفق الدم، ويمنع تلوث الجرح بالبكتيريا.

كما استخدمت جراثيم الفطر السابق كمادةٍ موقفةٍ للنزيف فى أوروبا خلال القرن الثانى الميلادى، وربما كان ذلك هو سبب احتفاظ قدماء الرومان بكمياتٍ منها داخل قوارير صغيرةٍ محفوظةٍ فى فجواتٍ على طول السور الذى بناه القيصر الرومانى هارديان (١١٧–١٣٨ ميلادية) لتأمين حدود مملكته.

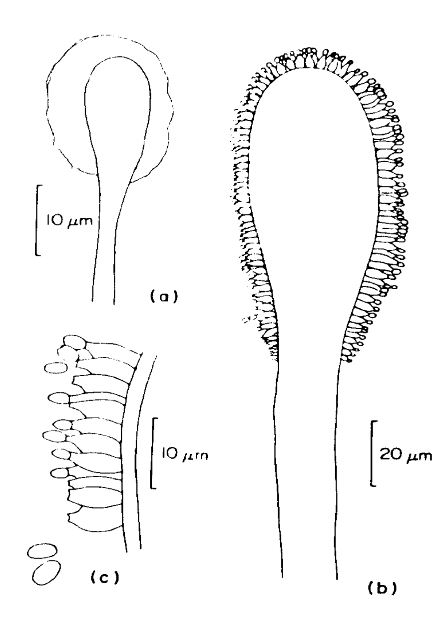
وفى أمريكا الشمالية، استخدمت الكتل الميسليومية لفطر عيش الغراب الرفى *Fomitopsis officinales* –التى تنتشر على الخشب المتعفن– بواسطة الحطابين؛ لوقف النزيف الناتج من جروح «بلط» تقطيع الكتل الخشبية.

ومن الوصفات الشعبية الهندية لعلاج الجروح، إضافة مسحوق خميرة الخباز إلى دقيق القمح، وعجنها بقليلٍ من الماء؛ حتى تصبح عجينةً سميكةً تقلب قليلاً على النار، ثم توضع على الجرح لمدة ليلةٍ. وهناك وصفات شعبية أخرى يستعمل فيها الخبز المتعفن وقش القمح المتعفن لعلاج الجروح المتقيحة بفعل البكتيريا، كان الغجر الأوربيون يستعملونها.

وفى بداية القرن التاسع عشر استعمل اللورد الإنجليزى جوزيف ليستر **Lord J. Lister (1827-1912)** عزلاتٍ من الجنس ***Penicillium*** لمعالجة الجروح الملوثة، ثم شاع –بعد ذلك– استخدام الفطريات فى علاج الجروح بواسطة الأطباء المحليين فيما يسمى بالطب الشعبى. إلا أننا لانعلم –على وجه الدقة– ما إن كانت مثل هذه المستحضرات الفطرية تحتوى على نوعٍ أو أنواعٍ ما من المضادات الحيوية المعروفة أم لا.

ومن المعتقد أن فاعلية المستحضرات السابقة –المنتجة من فطريات العفن– ترجع إلى وجود بعض نواتج التمثيل الغذائى الثانوى للفطر المستخدم ذات تأثيرٍ مثبطٍ لنمو البكتيريا **antibacterial metabolites**؛ مثل المضاد الحيوى باتيولين **patulin** الذى

يفرز بواسطة أنواع مختلفة من الفطريات؛ مثل: *Aspergillus clavatus*، و *Penicilli-um patulum*، و *P. expansum*. إلا أن الأبحاث الحديثة أظهرت أن هذا المضاد الحيوى له تأثيرات سامة على حيوانات التجارب، وله تأثير مسرطن للفئران carcino-genic effect، كما يسبب سمية عصبية neurotoxicosis فى الماشية.



شكل (١١٤) : الفطر *Aspergillus clavatus*.

a – الشكل العام للرأس الكونيدى.

b – الرأس الكونيدى يوضح تراص القارورات phialides.

c – قارورات تخرج من فوهتها كونيديات.

وهكذا نشط العلماء للبحث عن مضادٍ حيويّ مأمونٍ؛ لذا زاد الاهتمام بدراسة المستحضرات الخام المنتجة بواسطة سلالات الفطر ***Penicillium notatum*** المنتجة للمضاد الحيوى بنسلين. وفى مستهل أربعينيات القرن الحالى استخدمت هذه المستحضرات الخام من البنسلين فى معالجة الجروح المتقيحة بفعل التلوث البكتيرى، ثم بدأت تنقية البنسلين، وبدأ استخدامه لعلاج جرحى الحرب العالمية الثانية من الجنود، وبعد ذلك بسنواتٍ.. أصبح متاحًا للمدنيين.

وعلى الرغم من أن البنسلين **penicillin** كان أول مضادٍ حيويّ حقيقيّ تستخدمه البشرية فى علاج جروحها وتسكين الآمها، إلا أنه اكتشفت بعد ذلك الآف المركبات الناتجة من التمثيل الغذائى الثانوى للأحياء الدقيقة، معظمها ناتج من الفطريات والأكتينومايسيتات **Actinomycetes**، كان لها تأثيرات مثبطة لنشاط البكتيريا الضارة بصحة الإنسان.

ومن أمثلة المضادات الحيوية ذات الأصل الفطرى والمستخدمة فى النواحى الطبية: البنسلين **penicillin**، والسيفالوسبورين **cephalosporin**، وحمض الفيوسيديك **fusidic acid**، وجميع هذه المواد ذات تأثيرٍ مضادّ لنشاط البكتيريا الملوثة للجروح.

وهناك مضادات حيوية أخرى تفرزها بعض الفطريات، وتعمل على تثبيط نمو فطرياتٍ أخرى **antifungal agent**؛ مثال ذلك المضاد الحيوى جريسيوفولفين **griseo-fulvin**؛ الذى ينتج كأحد نواتج التمثيل الغذائى الثانوى للفطر ***Penicillium griseo-fulvum***، والفطر ***P.nigricans***. ويستعمل هذا المضاد الحيوى لعلاج الأمراض الجلدية المتسببة عن الفطريات فى الإنسان والحيوان.

ويعتبر إنتاج المضادات الحيوية من المنتجات المألوفة للتمثيل الغذائى الثانوى لكثيرٍ من الفطريات، والتى يصل عددها إلى نحو ألفى مضادّ حيويّ معروفٍ حتى الآن. كما أن بعض هذه المنتجات المفرزة من الفطريات ذات فوائد طبيةٍ لاحصر لها؛ مثال ذلك قلويدات الأرجوت **ergot alkaloides**، ومشتقات الأستيرولات **steroid derivatives**،

والمواد المثبطة لتكوين الأورام antitumour agents، والمواد المنظمة للمناعة immuno- regulators.

(١) المضاد الحيوى بنسلين:

أ- اكتشاف البنسلين:

احتفل العالم بمرور نحو ٦٠ عاماً على أول استخدام طبيٍّ ناجح للمضاد الحيوى بنسلين الذى تمت تنقيته جزئياً. ومنذ ذلك التاريخ أحدث هذا المضاد الحيوى القريد ثورةً طبيةً عظيمة الأثر؛ جعلت فى الإمكان إضعاف تأثير البكتيريا الضارة التى تفتك بجسم الإنسان مسببةً أمراضاً خطيرةً؛ مثل تعفن الدم septicaemia، والتهاب العظام osteomyelitis؛ حتى صارت هذه الأمراض الآن فى ذمة التاريخ.

كما وفر البنسلين ظروفاً جيدةً لتطور علم الجراحة، ومهد الطريق لاكتشاف مزيدٍ من المضادات الحيوية الأخرى؛ مثل ستربتومايسين streptomycin. ونظراً لزيادة الطلب على البنسلين كعقارٍ ناجحٍ لعلاج الجروح المتقيحة بفعل البكتيريا، فلقد أدى ذلك إلى تطور تقنية التخمرات، وساعد على تحسين أساليب الإنتاج الصناعى لنواتج التمثيل الغذائى للفطريات.

ليس هذا فحسب، بل إن ظهور البنسلين بتأثيره الساحر على دحر البكتيريا الممرضة للإنسان، جعل الفطريات محط اهتمام جميع الباحثين والدارسين، وأصبح علم الفطريات من العلوم التى يهتم بها العلماء من مختلف التخصصات؛ فزاد الاهتمام بدراسة تقسيم الفطريات، وفسيولوجيا نموها، وهندستها الوراثية؛ حتى أصبح فى الإمكان إنتاج سلالاتٍ محسنةٍ من الفطريات عظيمة القيمة الصناعية.

ولاتنسى البشرية أن الفضل فى ذلك يرجع إلى العالم الإنجليزى «سير الكسندر فلمنج» Fleming (1881-1955)، والذى نال حظه من التقدير عام ١٩٤٥، بعد أن وضعت الحرب العالمية الثانية أوزارها، ونال جائزة نوبل للسلام فى العلوم الطبية؛ نظراً لاكتشافه ذلك المضاد الحيوى عام ١٩٢٨.

ففى أحد معامل البكتيريا بإنجلترا، وقف هذا العالم يدرس نمو أنواعٍ من البكتيريا العنقودية النامية على بيئاتٍ غذائيةٍ فى الأطباق الزجاجية، ولكنه لاحظ وجود تلوثٍ فى بعض هذه الأطباق؛ حيث تبعثرت على سطح البيئة نموات فطرية ذات حوافٍ بيضاء، بينما تلون مركزها باللون الأخضر.

وربما انزعج «فلمنج» من هذا الفطر الدخيل، وفكر برهةً فى التخلص من تلك الأطباق الزجاجية التى لوثها هذا الميكروب؛ فأفسد التجربة التى كان يجريها. ولكنها كانت لحظةً مباركةً، منحه الله فيها قوة الملاحظة؛ فقوّى بصره، وأنار بصيرته، وعندما دقق «فلمنج» النظرَ فى هذه النموات المتداخلة بين البكتيريا والفطر الملوث، شاهد عجباً.

فلقد نمت مستعمرة الفطر فى شكلٍ قرصيٍ، تحيط بها منطقة خالية من أية نمواتٍ بكتيريةٍ. وكانت هذه الهالة الشفافة التى تحيط بالفطر واضحةً أشد الوضوح، ومتكررةً فى جميع الأطباق الزجاجية التى وَجَدَ الفطرُ الملوث إليها سبيلاً.

وهنا اكتشف «فلمنج» أن هذا الفطر ينمو مؤثراً على نمو الخلايا البكتيرية العنقودية الممرضة للإنسان، والتى تفسد جروحه وتقيحها؛ فقام بعزل الفطر الملوث، وأعاد التجربة مرةً أخرى، ثم مراتٍ عديدةً، حتى تيقن من أن هذا الفطر يفرز مواد ناتجةً من تمثيله الغذائى فى البيئة التى ينمو فيها تعمل على قتل خلايا البكتيريا.

وعندما فحص هذا الفطر فحصاً مجهرياً، وجد أنه يتبع الجنس ***Penicillium***؛ وهو من الفطريات الشائع وجودها فى التربة، والتى يحمل الهواء جراثيمها الدقيقة؛ لذا أطلق «فلمنج» على هذه المادة الفعالة القاتلة للبكتيريا اسم «بنسلين **penicillin**»؛ نسبة إلى ذلك الفطر الذى يفرزها.

وأعلن «فلمنج» عن اكتشافه الباهر عام ١٩٢٩؛ وذلك فى أحدى المجلات العلمية المتخصصة (**Brit. J. Exptl. Pathol.**)؛ والتى كانت تصدر فى لندن حينذاك. ثم استكمل «فلمنج» وزملاؤه دراساتهم على هذه المادة الساحرة -البنسلين- وعلى الفطر

الذى يفرزها، والذى تحدد نوعه -بعد ذلك- وعرف تحت اسم *P.notatum*.

ولقد تميز ذلك المضاد الحيوى المكتشف بأنه مجموعة من المركبات الفعالة المؤثرة على جميع البكتيريا الموجبة لصبغة جرام. وهي تضم جميع البكتيريا الكروية بمختلف أشكالها؛ مثل السبحية، والعنقودية، والتى تسبب مشاكل صحيةً لاحصر لها للإنسان. كما أظهرت الأبحاث الأولية التى أجريت على هذا المضاد الحيوى بأنه قليل السمية للإنسان.

وشاركت الولايات المتحدة -بعد ذلك- فى الأبحاث الخاصة بإنتاج البنسلين وتنقيته، حيث استكمل الباحثان سير هوارد فلورى **Sir H. Flory** وإرنست شاين **E. Shain** مابدأه «فلمنج»؛ وذلك فى معامل جامعة أكسفورد عام ١٩٤٠؛ حيث تمكنا من تنقية المادة الفعالة، ثم إنتاجها بعد ذلك بصورةٍ تجاريةٍ.

وفى عام ١٩٤٤، نشر «فلمنج» بحثاً رائعاً عن إنجازاته العلمية فى مجال تطوير إنتاج واستخلاص ذلك المضاد الحيوى؛ وذلك بعنوان (البنسلين: ١٩٢٩-١٩٤٣) بالمجلة الطبية الإنجليزية، ثم تبعه كتاب بعنوان (البنسلين واستخداماته) عام ١٩٤٦، فى أعقاب حصوله على جائزة نوبل للسلام فى مجال البحوث الطبية.

وزاد اهتمام كثيرٍ من الباحثين بتطوير البنسلين، وخاصةً العالم البكتيرى «سلمان واكسمان **Wachsman**» الباحث بقسم الزراعة الأمريكى **USAD**؛ والذى نشر بحثاً بعنوان (التضادات الميكروبية والمواد المضادة للبكتيريا) وذلك عام ١٩٤٧. ومن الجدير بالذكر أن هذا العالم الفذ قد استمر فى أبحاثه واكتشف في معمله ـ بعد ذلك- مضاداً حيوياً جديداً هو ستربتومايسين، وحصل على جائزة نوبل للسلام فى البحوث الطبية عام ١٩٥٢.

ومن تصاريف الأقدار، أنه فى نفس العام الذى حصل فيه عالم البكتيريا الإنجليزى «ألكسندر فلمنج» على جائزة نوبل للسلام فى مجال البحوث الطبية -عام ١٩٤٥- عن اكتشافه المضاد الحيوى بنسلين، حصل عالم الكيمياء الفنلندى فيرتانين

A.I.Virtanen (1895-1973) على نفس الجائزة، ولكن فى بحوث الكيمياء الحيوية؛ والتى شملت دراسة ميكروبات التربة، واستخدام بعضها فى التخمرات، وصناعة وتسوية الجبن.

ولقد استمرت الأبحاث فى مجال تطوير إنتاج البنسلين فى كلٍ من الولايات المتحدة وإنجلترا؛ حيث قام بعض العلماء بفصل هذا المضاد الحيوى بصورةٍ نقيةٍ على صورة بلوراتٍ ثابتةٍ قابلةٍ للذوبان فى الماء، ثم تم ـ بعد ذلك ـ تحديد تركيبه الكيميائى بدقة.

كما أمكن الوصول إلى عزلاتٍ جديدةٍ من الفطر المنتج لهذا العقار العجيب، تتميز بغزارة إنتاجها منه؛ مما كان له أكبر الأثر فى علاج جرحى القوات المحاربة خلال الحرب العالمية الثانية (١٩٣٩–١٩٤٥)، وأنقذت أرواح كثيرة منهم، أو –على الأقل أنقذت أطرافهم من البتر.

ليس هذا فقط، بل كان البنسلين علاجًا شافيًا لعديدٍ من الأمراض الأخرى التى تسببها البكتيريا، والتى عانتها الإنسانية ردحًا طويلاً من الزمن؛ مثال ذلك مرض السل الرئوى، والسيلان، والزهرى، والدفتريا، والحمى المتقطعة.

ب- تطوير إنتاج البنسلين:

لقد صاحب تطوير إنتاج البنسلين تلك الطفرة الهائلة فى التقنيات الحيوية للمواد الناتجة من التمثيل الغذائى الثانوى من خلال التخمرات الفطرية الصناعية، خلال الحرب العالمية الثانية.

ففى ربيع عام ١٩٤١، نجحت التجارب الأولية التى أجريت على بعض الجرحى من الجنود بهذا العقار الساحر، إلا أن ذلك أظهر عجز الإنتاج المعملى فى توفير الكميات اللازمة من البنسلين لعلاج الأعداد الكبيرة من جرحى الحرب؛ سواء من العسكريين، أم المدنيين.

وكانت أهم مشكلات إنتاج البنسلين وتنقيته هى استخدام المذيبات العضوية لاستخلاص البنسلين؛ فلقد تمكن «فلمنج» من إنتاج البنسلين فى بيئة حساء اللحم النامى فيها الفطر *P.notatum*؛ وهذا مافعله أيضاً مجموعة من باحثى جامعة أكسفورد بعد ذلك؛ حيث لاحظوا أن البنسلين يمكن استخلاصه من البيئة الغذائية؛ عن طريق إذابته فى الإثير **ether**، ولكن عند تبخير الإثير فإنه يحمل البنسلين معه.

وكان حل هذه المشكلة على يد مجموعة بحثية برئاسة العالم **Clutterbuck**؛ حيث استطاعوا الحصول على البنسلين من الأثير المتبخر عن طريق إمراره فى محلول منظم حامضى التأثير. وهكذا نجح الفريق البحثى بجامعة أكسفورد فى إنتاج مسحوق بنى اللون هو البنسلين النقى.

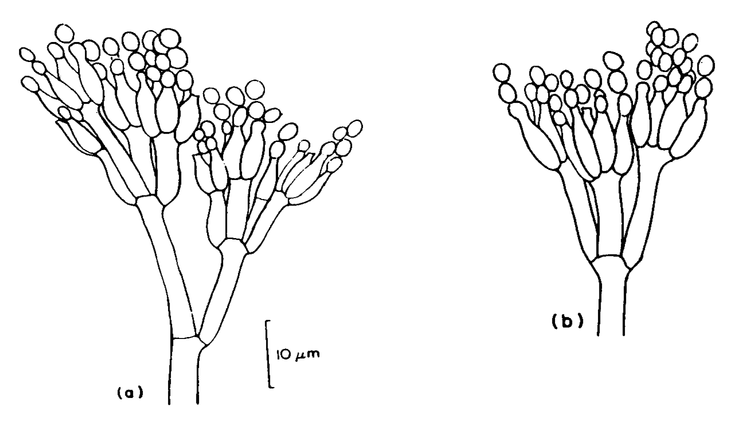
وكانت المشكلة الثانية التى قابلت هذا الفريق البحثى هى كيفية إنتاج أكبر كمية من البنسلين، تمكنهم من استكمال تجاربهم على حيوانات التجارب فى المعمل، ثم علاج الحالات الحرجة من المصابين ذوى الجروح المتقيحة.

ولم يكن أمام هؤلاء الباحثين سوى استعمال أعداد كبيرة من الدوارق الزجاجية لإنماء الفطر والحصول على البنسلين، ولكن هذا كله لم ينتج سوى كميات ضئيلة من هذا المضاد الحيوى، وكان لابد من البحث عن أسلوب آخر للإنتاج.

ومع بداية عام ١٩٤٢، حدث تطور مفاجىء فى التقنية الحيوية لإنتاج البنسلين؛ وذلك من خلال تطوير نظام الفصل المعتمد على الطرد المركزى؛ ففى هذا النظام، تم تطوير نظام متكامل لجهاز يتكون من حمام مائى وعدد من خضاضات اللبن —سعة الواحدة عشرة جالونات (نحو ٤٠ لترا) — حيث تتصل جميعها بأنابيب، تدفع خلالها المحاليل باستعمال مضخة تشبه تلك الأنواع المستخدمة فى رى الحدائق المنزلية.

وباتباع هذه التقنية الحيوية، أمكن لشركات صناعة الأدوية الإنجليزية إنتاج كميات كبيرة من البنسلين باستعمال طريقة التخمر السطحى **surface fermentation method**، والتى تم تعديلها عن الطريقة المتبعة فى الإنتاج التجارى لحمض الستريك.

شكل (١٥) التركيب الأساسى للمضاد الحيوى بنسلين؛ حيث يحتوى penicillin G على سلسلةٍ جانبيةٍ (R).



شكل (١١٦) : الفطر ***Penicillium chrysogenum*****.**

(a) - رأس نموذجىٌ ذو تفرع واحدٍ. **(b) - رأس بسيط غير متفرع.**

ومع ذلك، فإن التطور الرئيسى فى إنتاج البنسلين لم يتم تحقيقه فى إنجلترا موطن اكتشافه، ولكن تم فى الولايات المتحدة؛ فلقد عمل علماء الفطريات الصناعية الأمريكان على إجراء تجارب بغرض اختيار طفراتٍ لعزلاتٍ فطريةٍ؛ لإنتاج أعلى

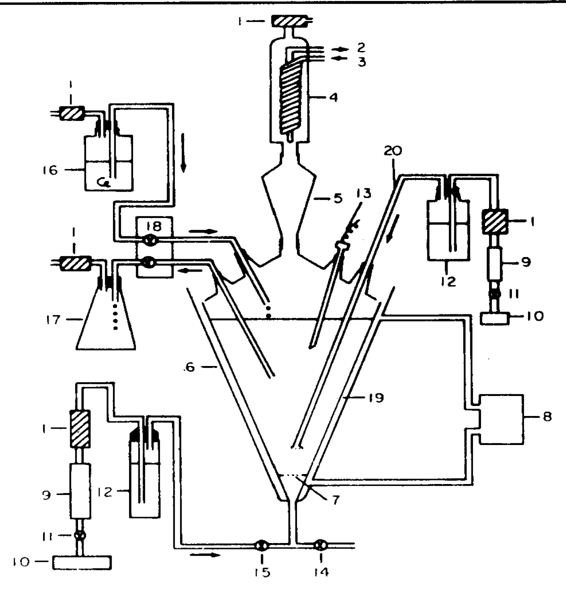
كميةٍ من البنسلين، بالإضافة الى تطويرهم للبيئات الغذائية المستخدمة فى تنمية الفطر.

ولعل أهم ماقام به العلماء الأمريكان فى هذا المجال، هو أقلمة السلالات الفطرية على النمو فى البيئات السائلة فيما يعرف باسم «التخمر العميق deep fermenta-tion»؛ مما عجل بتطوير إنتاج البنسلين تطويراً هائلاً؛ وذلك بإنتاج كمياتٍ كبيرةٍ منه مع نهاية الحرب العالمية الثانية، مع تخفيض تكاليف إنتاجه.

وحتى ذلك الحين كان العلماء الإنجليز مازالوا مرتبطين بطريقتهم التقليدية فى إنتاج البنسلين -وهى طريقة التخمر السطحى- مما أدى إلى تأخير تحقيق طفرةٍ فى إنتاجه التجارى. وفى ذلك الوقت كانت فسيولوجيا الفطريات فى بدايتها بالجامعات الإنجليزية، ولم تهتم شركات الأدوية -حينذاك- بتطوير إنتاجها من هذا المضاد الحيوى.

وهكذا كانت الولايات المتحدة رائدة فى مجال التخمرات الفطرية؛ مما سمح لها بتحقيق معجزة إنتاج البنسلين بطريقةٍ تجاريةٍ؛ بينما لم تستطع إنجلترا تحقيق أى تقدم فى هذا المجال إلا مع بداية عام ١٩٤٧، عندما بدأوا فى اتباع أسلوب التخمر العميق فى إنتاج البنسلين.

ولقد أدى تطوير إنتاج البنسلين إلى زيادة الأبحاث التى تجرى على الفطريات بصفةٍ عامةٍ؛ سواء فى التطبيقات الصناعية، أم فى معامل البحوث بالجامعات فى شتى أنحاء العالم. ولم تكد تمر سنوات قليلة حتى ظهر مايسمى بـ «علم الفطريات التطبيقى» **applied mycology**، والذى يطلق عليه حالياً التقنية الحيوية للفطريات **fungal bio-technology**.



شكل (١١٧) : إنتاج البنسلين عن طريق التخمر المستمر continuous fermentation فى وعاء تخمر مخروطى الشكل conical bubble fermentor .

١ - مرشح هواء.
٢ - خروج الماء البارد.
٣ - دخول الماء البارد.
٤ - مكثف عاكس.
٥ - وعاء مانع لتكوين الرغاوي.
٦ - غلاف عازل للحرارة.
٧ - مرشح زجاجي.
٨ - منظم حراري (ثيرموستات).
٩ - مقياس لتدفق الهواء.
١٠ - مضخة غشائية.
١١ - صمام اختزالي reducing valve.
١٢ - مرطب للهواء.
١٣ - مقياس لرقم الحموضة.
١٤ - منفذ لخروج البيئة ولأخذ عينات منها.
١٥ - صمام دخول الهواء.
١٦ - وعاء البيئة الغذائية.
١٧ - دورق جمع الناتج النهائي.
١٨ - مضخة تموجية peristaltic pump.
١٩ - وعاء المفاعل الحيوي.
٢٠ - أنبوبة التهوية العليا.

ولعلنا فى العجالة السابقة، نشير إلى مولد هذه التقنية الحيوية للفطريات، والتى صادف مولدها دراسة جينات الفطريات وإعادة ترتيبها فيما يسمى بـ «الهندسة الوراثية» ؛ مما أتاح لنا الفرصة لتطوير استخدام الفطريات فى مجالاتٍ جديدةٍ، أسهمت فى حل عديدٍ من مشاكلنا مع البيئة ومع الإنتاج الزراعى والصناعى، ومازالت إسهاماتها القادمة فى رَحِمِ المستقبل.

جـ- الإنتاج التجاري للبنسلين:

يعتبر إنتاج الكحولات الصناعية والأحماض العضوية –وعلى رأسها حمض الستريك– من أهم المواد الناتجة من التمثيل الغذائى للفطريات من ناحية كمية الإنتاج العالمى، إلا أن إنتاج البنسلين يفوق ماسبق من نواتج التمثيل الغذائى؛ وذلك من ناحية أهميتها لصحة الإنسان، وإنقاذها لحياة الملايين.

ولقد سبقت الإشارة إلى دور العالم الإنجليزى فلمنج فى اكتشافه لهذا المضاد الحيوى خلال العقد الثالث من هذا القرن، وكيف نجح العلماء الأمريكيون فى تطوير الإنتاج التجارى للبنسلين؛ وذلك من خلال تطويرهم للسلالات الفطرية، والوصول إلى سلالاتٍ ذات كفاءةٍ عاليةٍ فى إنتاجها، وماصاحب ذلك من اتّباع تقنية التخمر العميق؛ لإنتاج كمياتٍ كبيرةٍ من هذا المضاد الحيوى تكفى لعلاج جراح الإنسانية فى جميع أنحاء العالم.

وتركزت بحوث تطوير إنتاج البنسلين فى الولايات المتحدة فى معمل بحوث الإقليم الشمالى **Northern Regional Research Laboratory** فى مدينة **Peoria** بولاية **Il-lionis**. وفى هذا المعمل تحققت طفرة عظيمة فى تقنية إنتاج البنسلين؛ حيث تم استخدام بعض المواد العضوية المتخلفة عن الصناعات الغذائية؛ مثل مخلفات صناعة النشا من الذرة **corn-steep liquor**؛ إذ أدى ذلك إلى زيادة إنتاج البنسلين من ١,٢ ميكروجرام إلى أكثر من ٢٤ ميكروجرامٍ لكل ملليلتر بيئة غذائية.

وأيضاً تم اكتشاف نوعٍ جديدٍ من الجنس ***Penicillium (P. chrysogenum)*** ينتج

كمياتٍ مضاعفةً من البنسلين، قدرت بحوالى ٥٤٠ ميكروجرام لكل ملليلتر بيئة غذائية؛ حيث عزلت هذه السلالة من ثمرة كنتالوب مصابةٍ بالعفن بعد تعريضها للأشعة فوق البنفسجية.

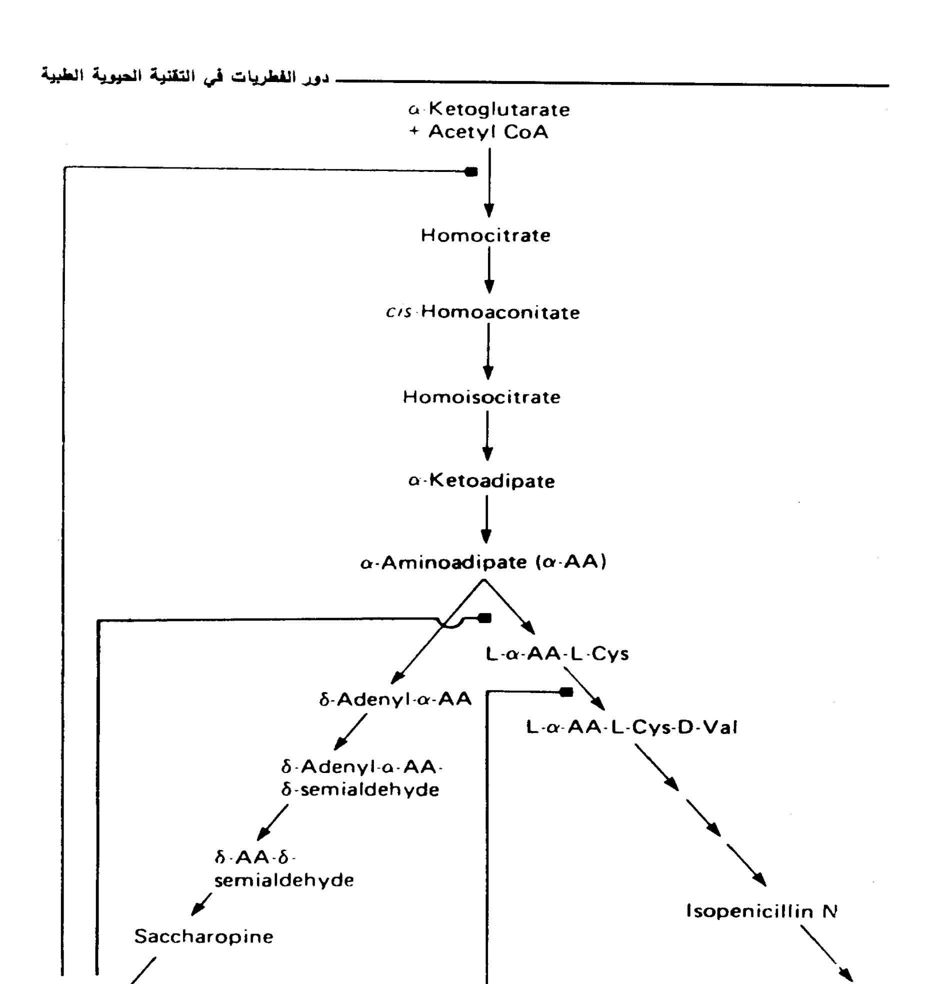
ويعتبر إنتاج البنسلين أول صناعة يتداخل فيها تطوير سلالة الفطر وتقنية التخمر فى وقتٍ واحدٍ؛ مما أدى إلى التقدم الكبير فى الإنتاج. ومازال العلماء يبحثون عن وسائل لتطوير سلالات الفطر المستخدمة؛ وذلك لتطوير إنتاج البنسلين حتى يصل إلى معدلات أعلى من المعدلات الحالية.

وعلى أية حال، فإن الإنتاج العالمى الحالى من البنسلين يكفى احتياجات العالم منه، حيث إن المتوسط العام للكمية المتاحة من الإنتاج السنوى توفر حوالى خمسة جراماتٍ لكل فردٍ.

وهناك أنواع مختلفة من المضاد الحيوى بنسلين يمكن إنتاجها خلال مرحلة التخمر، يجمعها كلَّها تركيبٌ عام مشترك، ولكنها تختلف بعضها عن بعضٍ فى طبيعة السلسلة الجانبية. ويميز تركيب البنسلين وجود أربع حلقات أميد four-membered amide rings، يطلق عليها «ß-lactam ring»، متحدةً مع خمس حلقات ثيازوليدين thiazolidine، وسلسلةٍ جانبيةٍ من الأكريل أمينو acrylamino side-chain.

وعلى ذلك، فإن رابطة السلسلة الأميدية الجانبية ثابتة كيميائيًا، ولكن يمكن تحليلها مائيًا؛ حيث ينتج عن ذلك حمض ٦ أمينو بنسيلانيك 6-aminopenicillanic acid (6-APA)، وهو مركب وسطى عظيم الأهمية.

وهناك مركبات جديدة نصف مخلقة semisynthetic compounds أنتجت بنسلين ج، penicillin G (benzylpenicillin)؛ وذلك عن طريق إدخال سلاسل جانبيةٍ جديدةٍ.



شكل (١١٨) : خطوات التخليق الحيوى للبنسلين، ونقاط التنظيم الحيوى بواسطة الحمض الأمينى ليسين Lysine.

$R-C(=O)-NH-$ | 6-Aminopenicillanic acid: β-Lactam ring (positions 6, 4) and Thiazolidine ring (positions 5, 1 S, 2, 3), with CH_3, CH_3, $COO^{\ominus}$ $(Na^{\oplus}, K^{\oplus})$

Acyl residue | 6-Aminopenicillanic acid

Designation	N-Acyl residue R
NATURAL PENICILLINS	
Benzylpenicillin (Penicillin G)	$-CH_2-CO-$
2-Pentenylpenicillin (Penicillin F)	$CH_3-CH_2-CH=CH-CH_2-CO-$
n-Amylpenicillin (Penicillin-Dihydro F)	$CH_3(CH_2)_4-CO-$
n-Heptylpenicillin (Penicillin K)	$CH_3(CH_2)_6-CO-$
p-Hydroxybenzylpenicillin (Penicillin X)	$HO-$ … $-CH_2-CO-$
Penicillin N (Synnematin B) (D-4-Amino-4-carboxy-n-butylpenicillin)	$^{\ominus}OOC-CH(NH_3^{\oplus})-(CH_2)_3-CO-$ D
Isopenicillin N (L-4-Amino-4-carboxy-n-butylpenicillin)	$^{\ominus}OOC-CH(NH_3^{\oplus})-(CH_2)_3-CO-$ L
Methylpenicillin	CH_3-CO-

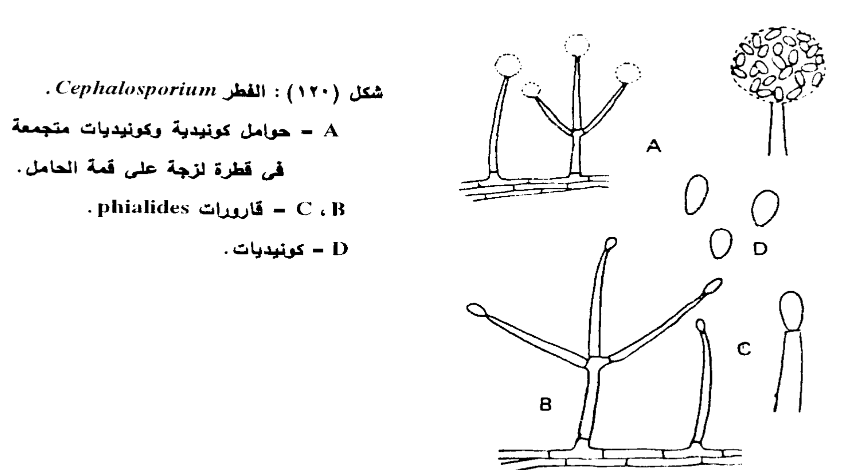
Designation	N-Acyl residue R
BIOSYNTHETIC PENICILLINS	
Benzylpenicillin (Pen. G) acid labile, β-lactamase sensitive, low activity against Gram-negative bacteria	$-CH_2-CO-$ Phenyl acetic acid
Phenoxymethylpenicillin (Penicillin V) acid stable, other properties like penicillin G	$-O-CH_2-CO-$ Phenoxy acetic acid
Allylmercaptomethylpenicillin (Penicillin O) reduced allergenic properties	$H_2C=CH-CH_2-S-CH_2-CO-$ Allyl mercapto acetic acid
SEMI-SYNTHETIC PENICILLINS	
Propicillin acid stable, β-lactamase sensitive	$-O-CH(CH_2-CH_3)-CO-$
Methicillin acid stable, β-lactamase resistant	OCH_3, $-CO-$, OCH_3
Oxacillin acid stable, β-lactamase resistant	$-CO-$, N, O, CH_3
Ampicillin broadened spectrum of activity (especially against Gram-negative bacteria), acid stable, β-lactamase sensitive	$-CH(NH_2)-CO-$ D(-)
Carbenicillin broadened spectrum of activity (especially against Pseudomonas aeruginosa), acid stable but ineffective orally, β-lactamase sensitive	$-CH(COO^{\ominus}Na^{\oplus})-CO-$

شكل (١١٩) : التركيب الكيميائى لبعض مركبات البنسلين الطبيعية والتخليقية والنصف تخليقية.

ويوجد التركيب ß-lactam فى مجموعة المضاد الحيوى «سيفالو سبورينات ceph-alosporins»،وكان أول هذه المركبات هو ذلك الذى تم الحصول عليه طبيعياً من بعض الأنواع الفطرية التابعة للجنس *Cephalosporium* –والذى يعرف حالياً بالجنس *Acremonium*– حيث تم عزله لأول مرةٍ من مصب مياه الصرف الصحى فى جزيرة سردينيا Sardinia.

ويلاحظ فى مركبات السيفالوسبورينات أن الحلقات الأربع من ß-lactam تتحد بعضها مع بعضٍ مكونةً ست حلقاتٍ غير مشبعةٍ من مركب dihydrothiazine.

ويعيب البنسلين الطبيعى سهولة تحليله فى المعدة إذا تم تناوله عن طريق الفم؛ وذلك نظراً لتركيبه الذى يشبه الأحماض الأمينية السريعة الهضم؛ مما يجعله يفقد فاعليته بسرعةٍ بمجرد وصوله إلى المعدة.

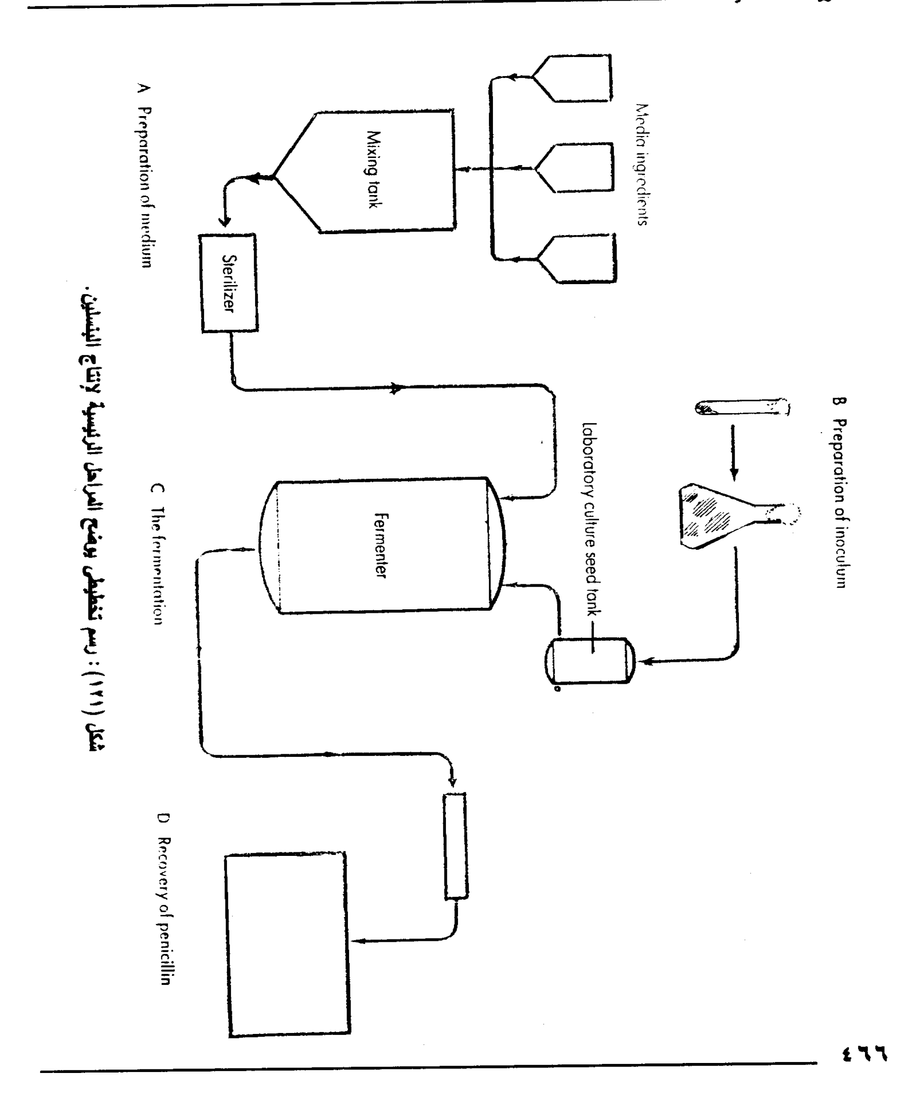


شكل (١٢٠) : الفطر *Cephalosporium*.

A – حوامل كونيدية وكونيديات متجمعة فى قطرة لزجة على قمة الحامل.

B ، C – قارورات phialides.

D – كونيديات.



شكل (١٢١) : رسم تخطيطي يوضح المراحل الرئيسية لإنتاج البنسلين.

المرحلة الأول: تجهيز البيئة الغذائية **(A): Preparation of medium**

حيث تستعمل مخلفات صناعة النشا من الذرة **corn-steep liquor**، واللاكتوز، والأملاح المعدنية، وغير ذلك من مكونات؛ تخلط بعضها ببعضٍ، وتعقم، ثم تترك لتبرد، ويتم ضخها في وعاء التخمر.

المرحلة الثانية: إعداد اللقاح الأولي (البادىء) **(B): Preparation of inoculum**

يستعمل الفطر ***Penicillium chrysogenum***؛ حيث تنقل النموات الفطرية من المزرعة النقية علي الآجار المائل إلي دورقٍ زجاجيٍّ يحتوي علي ردةٍ مبللةٍ ومعقمة. وبعد استكمال نمو الفطر علي الردة، يتم تكوين معلق للجراثيم، وينقل إلي وعاءٍ يحتوي علي بيئةٍ معقمةٍ يطلق عليه اسم «**bazooka**»، يستعمل بعد ذلك لتلقيح وعاء التخمر التجاري العملاق.

المرحلة الثالثة: مرحلة التخمر **(C): Fermentation**

يحتوي وعاء التخمر الكبير علي البيئة السابق تجهيزها، ثم يلقح بالبيئة السابق إعدادها في المرحلة السابقة التي ينمو فيها الفطر، ثم يدفع هواء معقم في وعاء التخمر خلال مرحلة التخمر.

المرحلة الرابعة: الحصول علي البنسلين **(D): Recovery of penicillin**

بعد الوصول إلي أقصي كميةٍ ممكنةٍ من المضاد الحيوي بنسلين تم تكوينها بفعل الفطر، تزال النموات الفطرية عن طريق الترشيح، ثم يُستخلص البنسلين في صورةٍ نقيةٍ عن طريق سلسلةٍ متتابعةٍ من عمليات الاستخلاص، تشمل الترسيب، وإعادة الإذابة، والترشيح، وغير ذلك.

كما أن ذلك البنسلين الطبيعى حساس لفعل إنزيم **penicillinase** ؛ الذى تنتجه بعض أنواع البكتيريا المقاومة لفعل البنسلين **penicillin-resistant bacteria** ؛ مما يقلل من تأثيره، بالإضافة إلى فاعليته المحدودة للبكتيريا السالبة لصبغة جرام.

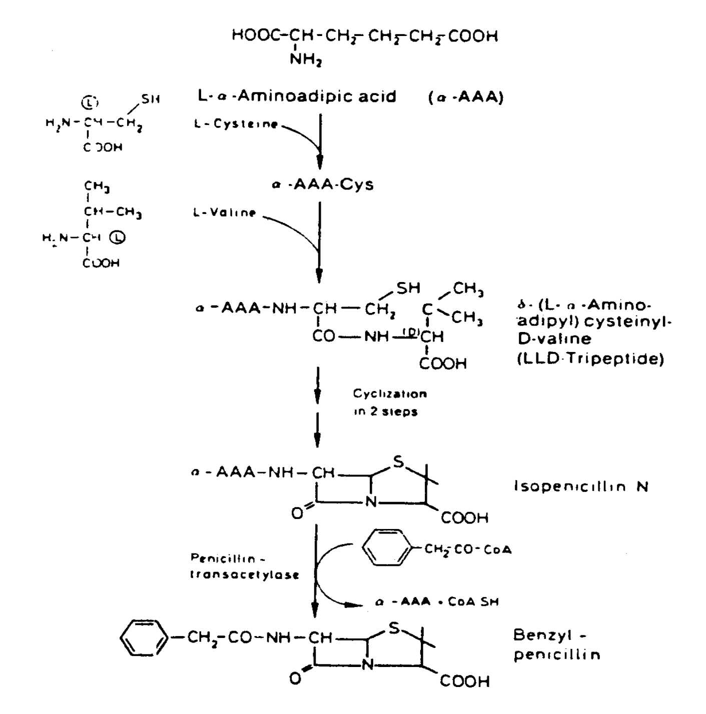
وعند إضافة حمض فينوكسى الخليك **phenoxyacetic acid** إلى بيئة محلول التخمر التى ينمو فيها الفطر ***P. chrysogenum***، فإن ذلك ينتج منه تكوين بنسلين ڤ **penicillin V** وتركيبه **phenoxymethyl penicillin**. ويتميز هذا النوع من البنسلين بثباته فى الوسط الحامضى؛ لذا فهو أول مضادٍ حيويٍ بنسلينيٍ يستخدم عن طريق الفم.

وعند تشبيع السلاسلِ الجانبية للمركبات الوسطية المستخدمة فى بيئة التخمر، فإن الفطر ***P. chrysogenum*** ينتج كميةً ضئيلةً من مركب ٦ أمينو حمض البنسليك **(6-APA)**، ولكن من السهولة إنتاج مركب بنزيل البنسلين **benzylpenicillin** صناعياً، وبعد ذلك يتم تحليل المركب للحصول على ٦ أمينو حمض البنسليك.

ويمكن إضافة عديدٍ من السلاسل الجانبية إلى المركب السابق **(6-APA)** بطريقةٍ كيميائيةٍ؛ وذلك لإنتاج مركبات بنسلين مخلقةٍ صناعياً **synthetic penicillins**؛ تتميز بمقاومتها لفعل إنزيم الهدم **penicillinase** الذى تفرزه بعض أنواع البكتيريا، وكذلك بقدرتها على تثبيط البكتيريا السالبة لصبغة جرام.

د- إنتاج بنزيل البنسلين:

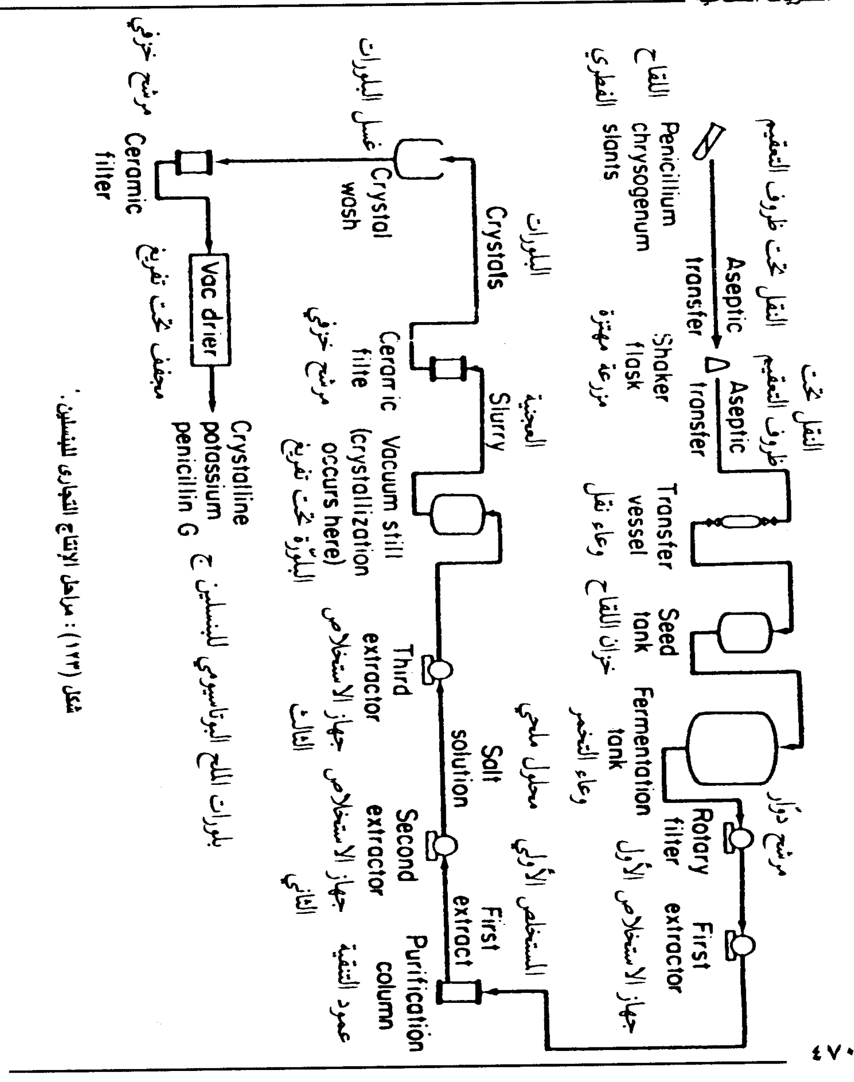
يتم إنتاج هذا المركب بإنماء الفطر ***P.chrysogenum*** على بيئةٍ غذائيةٍ تحتوى على مصدرٍ كربونيٍ مناسبٍ وعوامل نمو **growth factors**، بالإضافة إلى الأملاح المعدنية الضرورية. ويعتبر الجلوكوز المصدر الكربونى المناسب لتشجيع نمو الفطر وإنتاج كتلةٍ حيويةٍ **biomass production**، بالإضافة إلى إنتاج كميةٍ كبيرةٍ من البنسلين.



شكل (١٢٢) : التخليق الحيوى للبنسلين بواسطة الفطر *Penicillium chrysogenum*.

ولقد استخدم مخلوط من سكر اللاكتوز والجلوكوز كمصدرٍ كربوني لإنماء الفطرِ السابق؛ حيث أدى ذلك إلى إنتاج كتلة حيويةٍ هائلة من نموات الفطر، بينما لم يؤد استخدام اللاكتوز منفرداً إلى نتائج جيدة. وحيث إن سكر اللاكتوز مرتفع الثمن، فلقد تم تطوير إنتاج البنسلين عن طريق خفض كمية سكر الجلوكوز المستخدمة فى المرحلة الثانية من مراحل الإنتاج؛ حيث يقلل ذلك من تكوين نموات الفطر، ويدفعه إلى التمثيل الغذائى الثانوى منتجاً المضاد الحيوى بنسلين.

ومازالت المخلفات السائلة الناتجة من صناعة نشا الذرة **corn-steep liquor** هى المصدر الرئيسى للبيئات المستخدمة فى عملية التخمر لإنتاج البنسلين؛ نظراً لاحتواء



شكل (١٢) : مراحل الإنتاج التجارى للبنسلين .

هذه المخلفات السائلة على بعض المواد الأولية precursors التى يخلق منها البنسلين؛ مثال ذلك المواد الناتجة من التمثيل الحيوى للحمض الأمينى فينيل ألانين phenylal-nine؛ والذى يدمج فى سلسلة الفنيل أسيتيل phenylacetyl لتخليق بنزيل البنسيلين benzylpenicillin

وتعمد بعض المصانع الحديثة لإنتاج البنسلين إلى إضافة حمض فنيل أسيتيك phenylacetic acid كمادة إضافية لبيئة التخمر، وقد يضاف أحد مشتقات هذه المادة بكميات محدودة؛ وذلك خلال المراحل الأخيرة من مراحل التخمر. ويجب أن يؤخذ فى الحسبان عدم زيادة الكمية المضافة من حمض الفنيل أسيتيك إلى بيئة التخمر؛ نظراً لتأثيرها السام على الفطر فى تركيزاتها العالية.

وبمجرد أن يتم إنتاج البنسلين، تزال الكتلة الحيوية biomass من نموات الفطر؛ وذلك عن طريق ترشيحها من خلال مرشح غشائيّ دوّار يعمل بالتفريغ rotary vac-cum filter drum. وبعد الحصول على المحلول المترشح يترك فترةً ليبرد، ويخفض رقم حموضته.

ويتم استخلاص البنسلين المتكون من المحلول السابق بسرعة؛ وذلك باستخدام مذيب عضويّ مثل methyl isobutyl ketone، ثم يستخلص البنسلين عن طريق إضافة ملح بيكربونات الصوديوم المائى aqueous sodium bicarbonate، وبعد ذلك يزال ملح الصوديوم الناتج عن طريق التجفيف بالرذاذ spray drying.

وتؤثر بعض العوامل البيئية المختلفة على إنتاج البنسلين؛ مثال ذلك رقم الحموضة، ودرجة الحرارة، والتهوية، وغير ذلك من عوامل مختلفة؛ فعلى سبيل المثال يعتبر رقم حموضة ٦,٨-٧,٧ ملائماً لإنتاج البنسلين، ولكن ذلك يتوقف على نوع سلالة الفطر المستخدمة.

وكذلك الحال فى درجات الحرارة؛ حيث يناسب إنتاج البنسلين -كأحد نواتج التمثيل الغذائى الثانوى للفطر المستخدم -درجة حرارة ٢٥°م-٢٧°م، وهذه الدرجة

تناسب معظم سلالات الفطر العالية الإنتاج والتى تستخدم صناعيًا على نطاقٍ واسع. وعادة مايستخدم موتور كهربائى قوته ٦٠٠ كيلووات؛ لتقليب وعاء التخمر الذى تتراوح سعته بين عشرة آلاف لترٍ وعشرين ألف لترٍ من البيئة المستخدمة فى التخمر.

وللحصول على مركب ٦ أمينو حمض البنسليك (6-APA)– الذى يستخدم لإنتاج أنواعٍ مختلفةٍ من مركبات البنسلين – تتم معالجة المحلول المحتوى على ١٥٪ من بنزيـل بنسـلين بإنزيم penicillinacylase، وهو إنزيم بكتيرى تنتجه البكتيريا *E.coli*.

٢– المضادات الحيوية سيفالوسبورينات:

تتميز بعض السلالات الفطرية التابعة للجنس *Cephalosporium (Acremonium)* بإنتاجها خليطًا من المضادات الحيوية التى تعرف باسم «سيفالوسبورينات cephalospo-rins».

ويعتبر مركب سيفالوسبورين ن cephalosporin N الذى يعرف باسم أديسيلين ad-icillin – مشتقًا من المركب ٦ أمينو حمض البنسليك (6-APA)؛ ولذا فهو بنسلين، بينما سيفالوسبورين ب cephalosporin P عبارة عن مضادٍ حيويٍ مشابهٍ للستيرويد steroid-like antibiotic، ويتم تخليقه كما هو موضح فى الشكل (١٢٤).

ويعتبر مركب سيفالوسبورين (س) cephalosporin C هو المركب الأصلى parent compound لجميع المضادات الحيوية التي تعرف باسم «السيفالو سبورينات». ويمكن إزالة السلسلة الجانبية α -aminoadipyl side-chain بواسطة التحليل المائى –مع أخذ الاحتياطات اللازمة– حيث ينتج من ذلك حمض ٧ أمينو سيفالوسبورانيك 7-aminocephalosporanic acid (7-ACA). ويمكن تحويل هذا المركب إلى عديدٍ من المشتقات المختلفة ذات السلاسل الجانبية المتباينة.

ويعتبر المركب 7-ACA قريب الصلة بدرجةٍ كبيرةٍ بالبنسلينات، إلا أنه ليس حساسًا لفعل إنزيم التحليل penicillinase. وعلى الرغم من ذلك يمكن تحليله مائيًا بواسطة مجموعةٍ أخرى من الإنزيمات المحللة يطلق عليها اسم «cephalosporinases».

ولايستعمل المركب سيفالوسبورين (س) الموجود فى الطبيعة كمضادٍ حيويٍّ، ومع ذلك فإنه يستخدم فى إنتاج حمض ٧ أمينو سيفالوسبورانيك (7-ACA)؛ الذى تعاد إضافة مجاميع الأسيل reacylated إليه بواسطة سلاسل جانبيةٍ متنوعةٍ؛ وذلك لإنتاج أنواع السيفالوسبورينات المخلقة synthetic cephalosporins ذات القيمة الاقتصادية العالية.

ويتميز السيفالوسبورين بسميته المنخفضة low toxicity، وتأثيره الواسع على العديد من الكائنات الحية الدقيقة بالمقارنة بالأمبسلين. ويمثل إنتاج السيفالوسبورين ٢٩٪ من جملة الإنتاج العالمى للمضادات الحيوية، حيث يوجد حوالى ٣٠ نوعًا من مشتقات السيفالوسبورينات ذات الاستخدامات الطبية.

وكما هى الحال فى البنسلين، فالسيفالوسبورينات يتم إنتاجها بواسطة المزارع الفطرية المنماه على دفعات متزايدة fed batch culture؛ وذلك بإنماء الفطر على المحلول المتخلف عن صناعة نشا الذرة. ويضاف للمحلول السابق مستخلص اللحم وسكروز وخلات أمونيوم.

وتتم – عادة – إضافة مكونات البيئة السابقة بتركيزات متزايدة، ويضبط رقم الحموضة عند ٦–٧، ودرجة الحرارة عند ٢٤–٢٨°م. ويجب مراعاة احتياج الفطر *Cephalosporium* إلى تركيزات عالية من الاكسوجين أثناء نموه، بينما تقل احتياجاته للأكسوجين عند إنتاجه للسيفالوسبورينات.

ويتم التحكم فى إنتاج هذه المضادات الحيوية وذلك بالفوسفات، أو عن طريق مصدر النتروجين أو مصدر الكربوهيدرات، حيث لوحظ أن استخدام الجلوكوز والمالتوز والجلسرول يعمل على خفض إنتاج الفطر للسيفالوسبورينات. بعكس الحال عند إضافة حمض الفا أمينو اديبيك (α-AAA) α-amino adepic acid والميثيونين، اللذين يعملان على زيادة إنتاج الفطر لهذه المضادات الحيوية.

L-α-AAA + L-Cys + L-Val

LLD-Tripeptide

Isopenicillin N
(L-α-AAA-APA)

Racemase

Penicillin N
(D-α-AAA-APA)

Ring formation
stimulated by
Fe^{2+}, ascorbate, ATP

(D) H
α-AAA—N
S
N
O
CH_3
COOH

Deacetoxycephalosporin C

O_2

Dioxygenase stimulated by
Fe^{2+}, ascorbate, α Ketoglutarate

(D) H
α-AAA—N
S
N
O
CH_2OH
COOH

Deacetylcephalosporin C

$CH_3-\underset{\overset{\|}{O}}{C}-CoA$

(D) H
α-AAA—N
S
N
O
$CH_2O\ CO\ CH_3$
COOH

Cephalosporin C

شكل (١٢٤) : مراحل التخليق الحيوى للمضاد الحيوى
سيفالوسبورين (س) من الحمض ألفا-أمينو-أديبيك (α-AAA) .

R_1, R_3, H, S, O, N, CH_2-R_2, COOH

β-Lactam ring — Dihydro-thiazine ring

Designation	R_1	R_2	R_3
7-Aminocephalosporanic acid (7-ACA)	$-NH_3^+$	$-O-CO-CH_3$	-H
NATURAL CEPHALOSPORINS			
Cephalosporin C	$-CO-(CH_2)_3-(D)CH(NH_3^+)-COO^-$	$-O-CO-CH_3$	-H
Deacetyl-3'-carbamoyl-cephalosporin C		$-O-CO-NH_2$	-H
7-Methoxy-cephalosporin C		$-O-CO-CH_3$	$-OCH_3$
Cephamycin A		$-OCO-C=CH-C_6H_4-O-SO_3H$	$-OCH_3$
Cephamycin B		$-OCO-C(O-CH_3)=CH-C_6H_4-OH$	$-OCH_3$
Cephamycin C		$-O-CO-NH_2$	$-OCH_3$
SEMI-SYNTHETIC CEPHALOSPORINS			
Cephalotin	thienyl$-CH_2CO-HN-$	$-O-CO-CH_3$	-H
Cephalexin	$C_6H_5-CH(NH_2)-CO-NH-$	H	-H

شكل (١٢٥) : تركيب المضاد الحيوى سيفالوسبورين (س) والسيفاميسينات cephamycins وبعض السيفالوسبورينات النصف تخليقية semi-synthetic cephalosporins.

٣- المضاد الحيوى جريسوفولفين Griseofulvin :

يعتبر الجريسوفولفين المضاد الحيوى الوحيد المؤثر على الفطريات ذا الاستعمال الطبى؛ والذى ينتج عن طريق الفطريات؛ حيث ينتجه الفطر *Penicillium griseoful-vum (P.urticae)*. وهو المضاد الحيوى الوحيد الذى يحتوى تركيبه الكيميائى على حلقة عطرية.

ويقوم هذا المضاد الحيوى بتثبيط إنبات الجراثيم الفطرية ونمو هيفاته؛ لذا فتأثيره الرئيسى تثبيطى fungistatic أكثر منه قاتلاً للفطريات fungicidal. ونظراً لانخفاض سمية هذا المضاد الحيوى وقابليته للتراكم فى الجلد والشعر والأظافر عقب تناوله عن طريق الفم، فإنه يستعمل فى علاج الأمراض الفطرية التى تصيب الجلد سطحيـــًا su-perficial dermatophytoses؛ مثال ذلك مرض القوباء الحلقية ringworn، والقرع favus؛ وهى أمراض جلدية معدية.

ويتم إنتاج الجريسوفولفين باستعمال بيئةٍ تحتوى على سكر اللاكتوز، والمخلفات السائلة لصناعة النشا من الذرة corn-steep liquor، وملح كربونات الكالسيوم، وملح فوسفات البوتاسيوم ثنائى الهيدروجين potassium dihydrogen phosphate؛ حيث تتم حماية ذرة الكلور عن طريق إضافة ملح كلوريد البوتاسيوم ونترات الصوديوم كمصدر للنتروجين.

ويصل إنتاج هذا المضاد الحيوى إلى حوالى ١,٥ جراماً لكل لترٍ من البيئة الغذائية المستعملة فى إنماء الفطر؛ وذلك بعد سبعةِ أيامٍ من التحضين على حرارة ٢٥°م. ويمكن الحصول على الجريسوفولفين مباشرةً من بيئة النمو؛ وذلك عن طريق استعمال مذيباتٍ، ثم ينقى ويحول إلى بلوراتٍ.

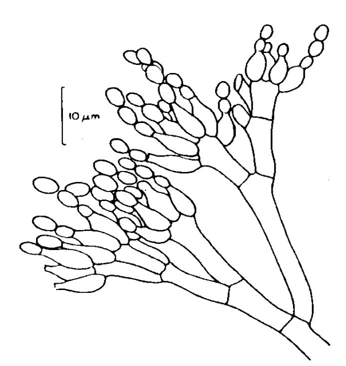
٤- المضادات الحيوية فيوسيدانات Fusidanes :

يعتبر حمض الفيوسيديك fusidic acid وحمض الهيلفوليك helvolic acid والسيفالوسبورين (ب) cephalosporin P مضاداتٍ حيويةً ذات تركيبٍ بنائيٍ يعتمد

على هيكل الفيوسيدان **fusidane skeleton**. ولايستخدم من هذه المضادات الحيوية السابقة سوى حمض الفيوسيديك فى العلاج؛ نظراً لتأثيره على البكتيريا الموجبة لصبغة جرام ـ خاصة البكتيريا العنقودية المقاومة للبنسلين **penicillin-resistant staphylococci** – وذلك عند تناوله عن طريق الفم.

CH_3O O OCH_3
H_3CO O
Cl CH_3

شكل (١٢٦) : التركيب الكيميائى للمضاد الحيوى جريسيوفولفين.



شكل (١٢٧) : حامل ورأس نموذجى للفطر ***Penicilium griseofulvum.***

ولقد عزل حمض الفيوسيديك لأول مرة من الفطر ***Fusidium coccineum***، إلا أنه تم الحصول عليه بعد ذلك من فطريات عديدة أخرى؛ كعزله من الفطر ***Mucor ramannianus*** تحت اسم راميسين **ramycin**، وأيضاً من بعض الأنواع التابعة لجنس ***Cephalosporium***.

وحديثًا أمكن الحصول على حمض الفيوسيديك من الفطر البازيدى *Isaria kon-gana*. ويؤثر هذا المضاد الحيوى على عمليات نقل الريبوسومات أثناء تخليق البروتين فى خلايا الكائنات الحية ذات النواة الحقيقية؛ والكائنات بدائية النواة.

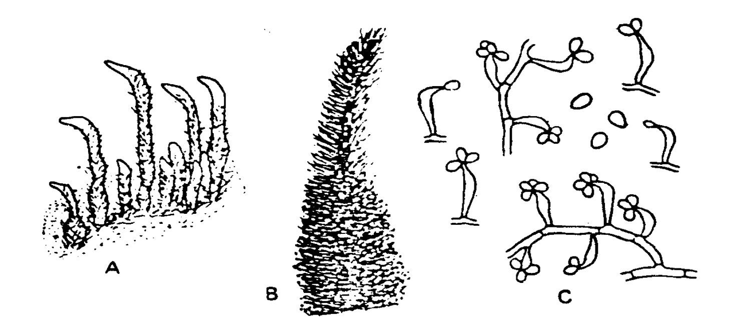
وهناك مضاد حيوى آخر ذو هيكل من الفيوسيدان، هو حمض الهيلفوليك hel-volic acid، يتم إنتاجه عن طريق عددٍ من الفطريات؛ منها الفطر *Aspergillus fu-migatus*، والفطر *Cephalosporium caerulens*.

٥- مضادات حيوية أخرى:

تنتج الفطريات مدى واسعًا من المركبات ذات التأثير المضاد لنمو الفطريات الأخرى أو البكتيريا antifungal or antibacterial activity، إلا أن هناك عددًا قليلاً من هذه المركبات أمكن استعمالها فى النواحى الطبية.

وكثير من هذه المركبات -مثل مركب أووسبورين oosporein- ذات تأثير سامّ mycotoxin، ولها عديد من الصفات المفيدة الأخرى؛ حيث يستخدم بعضها كمبيدٍ للحشائش الضارة herbicide، أو كمادةٍ قاتلة للبروتوزوا antiprotozoal activity.

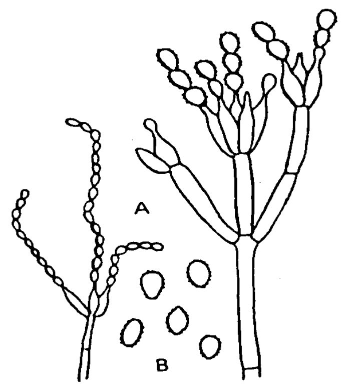
وبعض المضادات الحيوية المنتجة بواسطة الفطريات يكون لها استعمالات طبية محدودة، مثال ذلك المضاد الحيوى بسيلوسين pecilocin -والذى يعرف باسم فاريوتين variotin- حيث ينتجه الفطر *Paecilomyces variotii* والمضاد الحيوى فيوماجيلين fumagillin؛ الذى ينتجه الفطر *Aspergillus fumigatus*، والمضاد الحيوى سيسكانين Siccanin ؛ الذى ينتجه بعض أنواع الفطر *Helminthosporium* .



شكل (١٢٨) : الفطر *Isaria kongana*.

A – ضفائر كونيدية synnemata تنمو تجاه مصدر الضوء.

B – جزء من الضفيرة الكونيدية. C – حوامل كونيدية وكونيديات.



شكل (١٢٩) : الفطر *Paecilomyces variotii*.

A – حوامل كونيدية تحمل سلاسل من الكونيديات.

B – كونيديات.

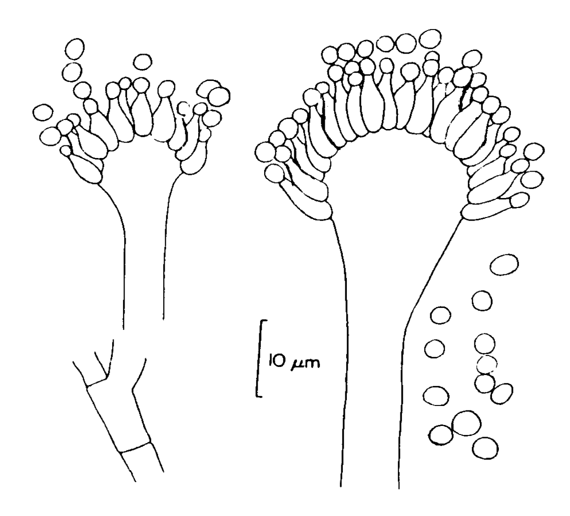
ثانياً: المواد المضادة للأورام وللفيروسات:

أحدثت المضادات الحيوية ذات التأثير الفعال على الفطريات والبكتيريا الممرضة للإنسان ثورةً فى مفهوم الطب الحديث، ومع ذلك فمازالت البشرية تعانى أمراضاً عديدةً، وفى مسيس الحاجة إلى علاجٍ لمعظم أمراض السرطان، وأيضاً إلى مواد مضادةٍ للفيروسات؛ بحيث تكون فعالةً وغير سامةٍ للإنسان.

ولقد أكد مرض فقدان المناعة المكتسبة acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) أهمية استمرار الأبحاث الخاصة بالمواد الفعالة المضادة للفيروسات effective antiviral agents.

ولقد تم عزل حوالى ٣٠٠ عاملٍ مضادٍ للتورم antitumour agent من الأحياء الدقيقة؛ منها أكثر من ثلاثة أرباعها أمكن الحصول عليها من الاكتينومايسيتات، و١١٪ من البكتيريا و ١٣٪ من الفطريات.

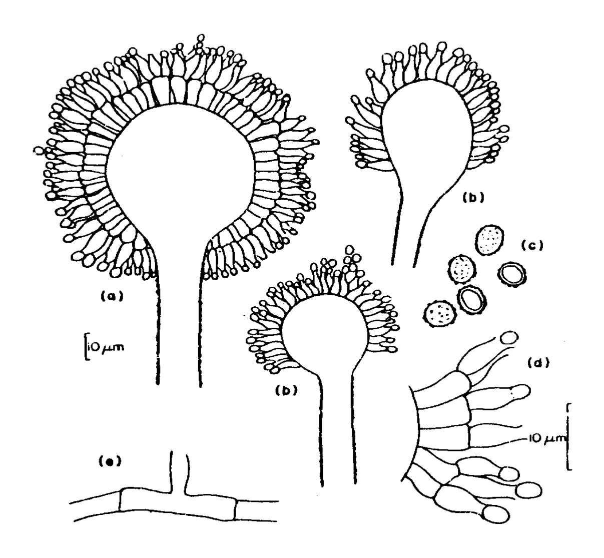
ومن ٤٣ عاملاً مضاداً للتورم تم الحصول عليه من الفطريات، وجد أن ٢٣ عاملاً تم الحصول عليها من الفطريات الناقصة Deuteromycetes، و ١٥ عاملاً من الفطريات البازيدية Basidiomycetes، وخمسة عوامل من الفطريات الأسكية Ascomycetes. وفى حصرٍ آخر حديثٍ، ظهر أن عدد العوامل المضادة للتورمات ٢٢٠ عاملاً، بينما كان هناك ٤٢ عاملاً مضاداً للفيروسات أمكن الحصول عليها من الفطريات.



شكل (١٣٠) : الفطر *Aspergillus fumigatus*.
رؤوس كونيدية conidial heads، وكونيديات، وخلية القدم.

إن بعض المواد السامة ذات المنشأ الفطرى (التوكسينات الفطرية mycotoxins)؛ مثل الأفلاتوكسين ب١ aflatoxin B_1 –الذى ينتج بواسطة الفطر *Aspergillus flavus*، والفطر *A.parasiticus*– تعتبر ذات تأثيرٍ مسرطنٍ carcinogenic، لكنها –فى الوقت نفسه– ذات تأثيرٍ محدودٍ لإيقاف نشاط تكوين بعض الأورام weak antitumour effects.

وتُنتَج بعض التوكسينات الفطرية –مثل الستريجماتوسستينات sterigmatocystins– بواسطة الفطر *A. versicolor*؛ وهذا التوكسين ذو تأثيرٍ مسرطنٍ، ولكنه أقل سميةً من الأفلاتوكسينات، وله تأثير قوى مثبط لمرض ليوكيميا ابيضاض الدم (سرطان الدم) المنقول للفئران transplanted mouse leukaemias.



شكل (١٣١) : الفطر *Aspergillus flavus*
(a) : رأس كونيدى تحمل فريعات metulae وقارورات phialides .
(b) : رأس كونيدى تحمل قارورات مباشرة.
(c) : كونيديات . (d) فريعات metulae مكبرة تحمل قارورات.
(e) : خلية القدم.

وهناك توكسينات فطرية أخرى معزولة من بعض أنواع الفطر *Myrothecium* تتميز بتأثيرها القوى المضاد للفطريات، كما أنها تثبط نمو مختلف الأورام الخبيثة التى تنشأ فى الأنسجة الضامة sarcomas فى الفئران. وكذلك تفرز بعض أنواع الفطر *Fusarium* مركباً يطلق عليه اسم «أنجويدين anguidine»؛ وهو فعال ضد مرض

لوكيميا الأورام الليفية فى الفئران transplantable mouse tumour lymphatic leu-kaemia.

كما ينتج فطر الخميرة *Candida albicans* معقداً من الجليكوبروتين خارج الخلية extracellular glycoprotein complex؛ يعمل على تثبيط الأورام السرطانية التى تنشأ فى النسيج الضام solid sarcoma-180 tumours.

وقد أثبتت أعداد لاحصر لها من نواتج التمثيل الغذائى للفطريات فاعليةً محدودةً فى تثبيط تكوين الأورام الخبيثة. ويمكن الإشارة إلى مركب الفيوماجيلين fumagil-lin الذى ينتجه الفطر *Aspergillus fumigatus*، والذى يعمل على تثبيط الأورام السرطانية transplanted sarcoma-180 فى الفئران، وكذلك مركبات trihydroxy tetralones؛ الذى ينتجها الفطر *Penicillium diverticulum*؛ وهى سامة للخلايا المصابة بسرطان يوشيدا Yoshida sarcoma cells.

وتنتج فطريات الخميرة –كالأنواع التابعة للجنس *Rhodotorula*– إنزيم pheny-lalanine ammonia lyase؛ وهو فعال ضد الفيروس المسبب لمرض سرطان الدم فى الفئران mouse leukaemia virus؛ وذلك عند اختباره؛ سواء تحت ظروف المعمل *in vitro*، أم على الفئران الحية.

وتعتبر الفطريات البازيدية والأسكية المصدر الرئيسى للمواد المضادة للأورام؛ حيث إن بعض هذه المواد عبارة عن سكرياتٍ معقدةٍ polysaccharides منتجةٍ من بعض الفطريات؛ مثل فطر عيش الغراب الثقبى *Coriolus consors*، وفطر *C. versicolor*. ويظهر معقد البروتين والسكريات المعقدة polysaccharide protein complex الناتج من مثل هذه الفطريات تأثيراً فعالاً ضد بعض الأورام السرطانية؛ مثال ذلك Ehrlich carcinoma، و sarcoma-180 فى الفئران، كما أن هذا المعقد قليل السمية. وكذلك الحال فى مادة الشيزوفيلان Schizophyllan التى يكونها فطر عيش غراب

القبعة المروحية ***Schizophyllum commune***؛ حيث أظهرت الأبحاث الحديثة قدرتها على تثبيط عديدٍ من الأورام السرطانية.

ولقد لاحظ بعض الباحثين فى اليابان عام ١٩٦٩ تأثيراً مضاداً للأورام **antitumour activity** للسكريات المعقدة الناتجة من فطر عيش غراب الشيتاكى ***Lentinus edodes***، وهو من أكثر فطريات عيش الغراب المألوفة فى كلٍّ من الصين واليابان؛ حيث أطلق على هذه السكريات المعقدة اسم لينتينان **lentinan**.

ويتكون اللينتينان من سكرٍ معقدٍ متعادل **neutral polysaccharide**، بالإضافة إلى جلوكان **ß(1,3)-D.glucan** ذى تفرع من النوع **ß(1,6)**. ويعتبر هذا المركب الناتج عن طريق الفطريات من أكثر السكريات المعقدة المضادة للأورام من حيث فاعليته فى تثبيط الأورام الخبيثة؛ حيث حظى بدراساتٍ عديدةٍ متنوعةٍ.

ويستعمل اللينتينان فى معالجة أمراض سرطانات المعدة المتكررة **recurrent stomach cancers**، كما يظهر هذا المركب نشاطاً مضاداً للهيستامين **antihistamine activity**؛ مما يجعله فعالاً فى معالجة أمراض الحساسية مثل مرض حمى القش **hay fever**.

وهناك فطريات أخرى تستعمل فى الطب الشعبى الصينى تتميز بفاعليتها فى تثبيط بعض أمراض السرطان، كما هى الحال فى فطر عيش الغراب الرفى ***Ganoderma lucidum***، وفطر ***Tremella fuciformis***، وفطر ***Poria cocos***، وفطر ***Cordyceps ophioglossoides***.

ولقد عُزِلَتْ عديد من المركبات ذات التأثير المضاد لتكوين الأورام السرطانية من فطر عيش الغراب المحارى ***Pleurotus osteratus***. ولايقتصر وجود هذه المركبات على الفطريات البازيدية، ولكن ثبت وجودها –أيضاً– فى بعض الفطريات الأسكية؛ مثال ذلك الفطر ***Sclerotinia glucanicum***؛ حيث ينتج هذا الفطر مادة سكليروجلوكان **scleroglucan**، وتعتبر هذه المادة واحدةً من أكثر السكريات المعقدة المضادة لتكوين الأورام التى تم اكتشافها حتى الآن.

وتوجد مجموعة من المواد الثانوية الناتجة من التمثيل الغذائى للفطريات fungal sccondary metabolites؛ يطلق عليها اسم epipolythiodioxopiperazines؛ وهى تشمل مركباتٍ؛ مثل: الجليوتوكسين gliotoxin، والكيتومين chaetomin؛ حيث تثبط هذه المركبات تضاعف الحمض النووى RNA الفيروسى؛ سواء فى المعمل، أم فى الكائن الحى.

وقد أثبتت المركبات السابقة فاعليةً فى مزارع الأنسجة ضد الفيروسات المسببة للأمراض الرئيسية للإنسان؛ مثال ذلك فيروس شلل الأطفال poliovirus، وفيروس coxsackievirus، بالإضافة إلى عديدٍ من فيروسات الإنفلونزا.

ومن ناحية أخرى، أظهر المركب فيونيكولوسين funiculosin المعزول من متخلف ترشيح البيئة النامى عليها الفطر *Penicillium funiculosum* فاعليةً شديدةً على تثبيط الأحماض النووية الفيروسية RNA، DNA، بينما كان المركب الناتج من نمو فطر *A. niger* –والذى أطلق عليه (FWH-755)– فعالاً ضد فيروسات الانفلونزا، وفيروس جدرى البقر vaccinia فى المعمل.

وربما يكون من الواضح من الدراسات السابقة أن المركبات التى تنتجها بعض الفطريات يكون لها تأثير فعال مضاد للأورام، وضد الإصابة بالفيروسات؛ وذلك تحت ظروف النظم المعملية laboratory model systems. إلا أن مثل هذه المركبات لم يُعتمد عليها بعد فى النواحى الطبية التطبيقية؛ سواء لعلاج أمراض السرطان، أم الأمراض الناتجة من الفيروسات.

ثالثاً: المواد المنظمة للمناعة immunoregulators:

لقد مضى نحو نصف قرنٍ منذ أن تم -لأول مرةٍ- نقل أعضاء للإنسان بدلاً من نظيرها التالف. ولكى يتم ذلك بنجاح، كان من الضرورى البحث عن وسائل تمنع رفض الجسم الطبيعى recipient's immune response للعضو الجديد المراد نقله، وإلا أدت هذه العملية إلى الفشل التام.

وفيما مضى، اتبع الأطباء حقن المريض بالعقاقير؛ للتأثير فى رفض الجسم للعضو الغريب؛ مثال ذلك azthioprine، و corticosteroides، إلا أن هذه العقاقير كان لها تأثير جانبى سيىء، يتفاوت من شخصٍ إلى آخر؛ مما جعل نجاح مثل هذه العمليات لايتجاوز النصف.

١ - السيكلوسبورين cyclosporin:

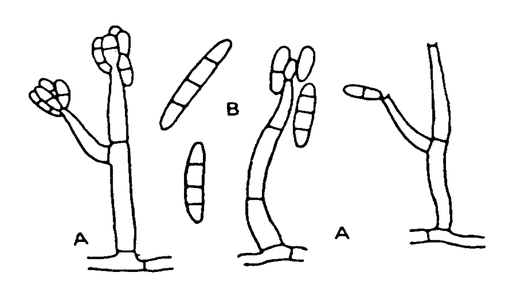
يعتبر المركب الفطرى سيكلوسبورين أول مركبٍ ناتج من التمثيل الغذائى الثانوى للكائنات الحية الدقيقة يمكن استخدامه طبيًا للتحكم فى نمو ووظيفة الخلايا العادية فى الحيوانات الثديية.

ولقد اكتشف هذا المركب وتم تطويره فى معهد ساندوز Sandoz للبحوث الطبية بسويسرا؛ حيث أُنتج تجاريًا تحت اسم SANDIMMUN. وأدى ظهور هذا المركب إلى زيادة فرصة نجاح عمليات نقل الأعضاء البشرية؛ حيث بلغ عدد من استفاد منه خلال عام ١٩٩٦ نحو ٢٠٠ ألف مريضٍ، تم نقل أعضاء إليهم دون مشاكل؛ بالاستعانة بهذا المركب.

وتعود قصة اكتشاف السيكلوسبورين إلى عام ١٩٥٨ عندما اهتم معهد ساندوز

ببرنامجٍ بحثيٍّ متطورٍ يهدف إلى دراسة المضادات الحيـوية الفعـالة ضـد الفطريـات antifungal antibiotics؛ حيث شكلت مجموعاتٍ بحثيةً من علماء قاموا برحلاتٍ علميةٍ لجمع عيناتٍ من التربة من شتى أنحاء العالم؛ لعزل واختبار الأحياء الدقيقة الموجودة بها.

وفى عام ١٩٧٠، تم عزل بعض فطريات التربة من عينةٍ تم الحصول عليها من ولاية Wisconsin الأمريكية، وكان من هذه الفطريات الفطر *Cylindrocarpon lucidum*، وأيضاً عزل الفطر *Tolypocladium inflatum* من النرويج، بالإضافة إلى عزله من الفطر *Trichoderma polysporum*، وكانت هذه العزلة الأخيرة موجودةً لدى الفريق البحثى للمقارنة.



شكل (١٣٢) : الفطر *Cylindrocarpon lucidum*.

A – حوامل كونيدية تحمل كونيديات . B – كونيديات.

وعند دراسة مسارات التمثيل الغذائى الثانوى لهذه الفطريات، وجدت بعض نواتج التمثيل الغذائى المتعادلة المحبة للدهون neutral lipophilic metabolites، وعند دراستها اتضح أنها ببتيدات معقدة حلقية غير قطبيةٍ non-polar cyclic polypeptides، ذات فاعليةٍ مضادة لنمو الفطريات antifungal activity.

ولقد اختبرت الفطريات السابقة؛ وذلك من ناحية إنمائها على البيئات السائلة؛ حيث أثبتت التجارب إمكانية نمو الفطر *T.inflatum* بسهولةٍ على مثل هذه البيئات؛ لذا استعمل بعد ذلك فى إنتاج السيكلوسبورينات على نطاقٍ تجاريٍّ واسعٍ. ولقد وجد أن السيكلوسبورينات لايكونها الفطر فى بيئة النمو، بل يحتفظ بها داخل هيفاته؛ لذا يجب استخلاص الميسليوم للحصول على هذه المواد الفعالة.

ولقد بدأ العالم **Borel (1983)** دراسة النشاط المخفض للمناعة **immuno suppressive activity** لهذا المركب. ولم يلاحظ على هذا المركب أى تأثيرٍ على خلايا الأورام **tumour cells** فى الفئران، ولا على مرض سرطان الدم **leukaemia** فى الفئران. وتدل هذه النتائج على أن خفض مناعة الجسم لاترتبط بإبطاء نشاط الخلايا وانقسامها **cytostatic activity**.

كما أوضحت الدراسات السابقة أن مادة السيكلوسبورين ذات تأثيرٍ مثبطٍ على انقسام الكريات الليمفاوية **lymphocytes** بطريقةٍ اختيارية، دون أن تثبط انقسام الخلايا الجسدية الأخرى. ولقد أدى ذلك إلى خفض مناعة الأجسام المضادة ومناعة الخلايا الوسطية **antibody-and cell-mediated immunity**.

وقد توالت الدراسات بعد ذلك على مختلف المركبات التابعة للسيكلوسبورينات؛ حيث أوضحت النتائج أن المركبين رقم ٢٤ ورقم ٥٦٦ لهما تأثير فى مناعة الجسم الطبيعية، وأطلق عليهما سيكلوسبورين **A** وسيكلوسبورين **B** على الترتيب، إلا أن المركب الأول (**A**) كان أكثر فاعليةً.

وكانت الكميات التى يتم الحصول عليها من السيكلوسبورينات قليلةً للغاية؛ نظراً لإنتاجها تحت ظروف المعمل، وظل الأمر هكذا حتى عام ١٩٧٣؛ حيث كانت عمليات نقل الأعضاء البشرية فى بدايتها، ولكن الأبحاث استمرت –فى ذلك الوقت– على فئران التجارب.

وأظهرت النتائج أن السيكلوسبورين **A** و **B** ذو تأثيرٍ علاجيٍّ لتصلب أنسجة فئران

التجارب، وهذا يوضح إمكانية استخدام هذا المركب فى تحسين حالة المرضى المصابين بالتهاب المفاصل (الروماتويد) rheumatoid arthritis.

ولقد شارك معهد ساندوز للأبحاث الطبية بمدينة برن بسويسرا فى هذه الأبحاث الجارية على السيكلوسبورينات؛ حيث وجد العالم Gubler أن هذا العقار له تأثير جيد فى علاج الروماتويد، بالإضافة إلى قدرته على خفض مناعة الجسم فى عمليات نقل الأعضاء immunosuppressive properties in the transplantation model.

وفى عام ١٩٧٦ نشرت مجموعة من الباحثين -منهم Petscher، و Kuhn و Lichti- بحثاً عن تركيب السيكلوسبورينات، وأوضحت نتائجهم أن هذه المركبات عبارة عن ببتيدات حلقية cyclopeptides. وكان كل مركبٍ من تلك المركبات يحتوى على أحد عشر حمضاً أمينياً متشابهاً، عدا حمضٍ أمينيٍ واحدٍ مختلفٍ.



شكل (١٣٣) : صورة بالمجهر الإليكترونى للفطر *Tolypocladium inflatum* تظهر بها الحوامل الكونيدية والقارورات والكونيديات (الصورة مكبرة ٥٠٠٠ مرة).

شكل (١٣٤) : تركيب السيكلو سبورين cyclosporin.

(عن Wenger, 1983)

وعلى ذلك وجد فى المركب سيكلوسبورين A أن الحمض الأمينى المختلف هو ألفا أمينو حمض البيوتيريك alpha aminobutyric acid، فى حين أنه فى سيكلوسبورين B كان الحمض الأمينى المختلف هو ألانينن alanine.

ويُنتج الفطرُ *Tolypocladium inflatum* عديداً من السيكلوسبورينات، يحتوى كل منها على أحد عشر حمضاً أمينياً، منها حمض واحد مختلف. ويبلغ عدد مركبات السيكلوسبورين الطبيعية خمسة وعشرين مركباً مختلفاً، إلا أنه أمكن تخليق نحو ٧٥٠ مناظراً من هذه المركبات بطريقةٍ صناعيةٍ وذلك عام ١٩٨٩، غير أن جميع هذه المركبات المخلقة لم يظهر لها أى تأثيرٍ طبيّ بالمقارنة بالسيكلوسبورين A.

ويعرف السيكلوسبورين A حالياً بالاسم التجارى «CYCLOSPORINE». ويتميز هذا العقار بعدم ذوبانه فى الماء، ولكن يمكن تناوله عن طريق الفم فى محلولٍ يحتوى

على مذيبٍ عضويٍّ أو دهنيّ. وتعتمد فاعلية هذا العقار فى تقليل مناعة الجسم لنقل الأعضاء على منع فاعلية الأجسام المضادة والمناعة غير المباشرة للخلايا **cell-mediated immunity**.

وتظهر فاعلية السيكلوسبورين **A** فى تثبيط تنشيط استجابة خلايا ت **T-cells**، وخاصةً خلايا **T.helper cells**. ويستعمل هذا العقار فى تثبيط الرفض المناعى أثناء عمليات نقل نخاع العظام فى الإنسان، بالإضافة إلى نقل الكبد والبنكرياس.

وتقوم شركة ساندوز بتسويق السيكلوسبورين **A**؛ حيث أثبت أنه عقار مأمون، وأن تأثيراته الجانبية محدودة؛ منها زيادة شعر الجسم، وإحساس المريض برعشةٍ تسرى فى جسمه، وقد يؤثر على الكلى. بينما لايؤثر على نخاع العظام.

ولقد كانت جميع العقاقير السابقة التى كانت تستعمل لتثبيط الرفض المناعى للجسم -مثل **azathioprine**- تعمل عن طريق تثبيط الانقسام غير المباشر (الميتوزى) فى جميع خلايا الجسم؛ مما أدى إلى تدهور تلك النظم الجسدية ذات الخلايا السريعة التحول؛ مثل نخاع العظام والخلايا المبطنة للقناة الهضمية؛ مما سبب أنيميا حادةً وإسهالاً لمن يتعاطى مثل هذا العقار.

وعندما اختبر السيكلوسبورين على خلايا الطحال وخلايا الثدى -بالمقارنة مع غيره من العقاقير الأخرى السابقة- أظهرت النتائج أن تأثير السيكلوسبورين متخصص على خلايا الطحال الليمفاوية **lymphoid spleen cells**؛ حيث كانت فاعليته عليها أكثر ثلاثمائة ضعف من تأثيرها على خلايا الثدى غير الليمفاوية **non-lymphoid mastocytoma cells**.

كما أظهر السيكلوسبورين أنه غير ضارٍّ على خلايا نخاع العظام وخلايا النخاع الشوكى، بعكس العقارين **azathioprine** و**methotrexate** السابق استخدامهما فى عمليات نقل الأعضاء؛ حيث سببا تأثيراتٍ سيئةً على خلايا النخاع الشوكى.

٢- الجليوتوكسين Gliotoxin :

ينتج هذا المركب كأحد نواتج التمثيل الغذائى الثانوية secondary metabolite لعديدٍ من الفطريات؛ مثل الفطر *Aspergillus fumigatus*؛ حيث يتبع هذا المركب مجموعة (ETPs) epipolythiodioxopiperazines. وتتميز المركبات التابعة لهذه المجموعة بأن تركيبها يتضمن حلقةً ثنائية الكبريت bridged disulphide ring؛ مما يعطيها صفاتٍ مضادةً للحيوية وللعمل كمثبطات مناعية antibiotic and immuno-toxic properties.

ولقد عرف التأثير المضاد للحيوية للجليوتوكسين منذ زمنٍ بعيدٍ، وعلى الرغم من ذلك لم يكن ذا قيمةٍ تطبيقية طبيةٍ. ويمكن القول إن هذا المركب أحد النواتج الثانوية للتمثيل الغذائى للفطريات التى لاقت إهمالاً لفترةٍ طويلةٍ مضت، إلا أنه أعيد تقييمه؛ حيث يعتبر الآن أحد العقاقير الحديثة الباعثة للحياة new lease of life؛ حيث جذب اهتمام الباحثين؛ نظراً لفاعليته الطبية فى زيادة نشاط الإنسان، واستعادة صحته، وإزالة القلق الناتج عن مشاكل الحياة اليومية.

ولقد اهتم عديد من الباحثين بهذا المركب، وكان على رأسهم الباحثان Waring & Mullbacher (1990)؛ فقد اهتما بنوعٍ من خلايا الدم البيضاء يسمى الملتهمات العملاقة big eaters (macrophages)؛ حيث تقوم هذه الخلايا بالتهام الجهاز المناعى immune system الذى يبتلع الجزيئات غير المرغوبة مثل البكتيريا. وتشمل هذه العملية التصاق تلك الخلايا الملتهمة بالجزئيات الغريبة وأيضاً بسطح الطبق البترى الذى تنمو عليه.

وخلال الدراسات السابقة تلوثت مزارع الخلايا الملتهمة بأحد الفطريات؛ مما أدى إلى عدم التصاق تلك الخلايا النامية بسطح الطبق البترى؛ وهذا يحدث –عادةً– عندما تموت مثل هذه الخلايا، ولكن الخلايا كانت لاتزال حيةً، غير أن الفطر الملوث للمزرعة عمل على منع التصاق الخلايا، وأيضاً عمل على فقدها القدرة على الالتهام.

ولقد تم فصل وتنقية هذا المركب، وعرف بأنه جليوتوكسين **gliotoxin**؛ حيث إنه يُنْتَج بواسطة أحد فطريات العفن؛ وهو ***A.fumigatus***. ولقد درست صفات المركب **gliotoxin**؛ فوجد أنه يمنع خلايا المناعة **immune cells** من الانقسام؛ وذلك عندما تحث بواسطة بعض الكيماويات المستخدمة فى محاكاة الانتيجينات؛ والتى يطلق عليها **mitogens**.

ويبدو من صفات الجليوتوكسين أنه توكسين المناعة **immunotoxin**، وهو مركب يقلل من الجهاز المناعى **immune system** فى جسم الإنسان؛ ونتيجة لذلك فإن الجليوتوكسين -شأنه فى ذلك شأن السيكلوسبورين- يمكن أن يستخدم فى جراحة نقل الأعضاء، أو فى زراعة نخاع العظام.

ولقد لعبت الصدفة دوراً كبيراً فى اكتشاف هذه الصفات ذات الأهمية الفائقة للجليوتوكسين، وكذلك الحال فى كشف النقاب عن خصائص السيكلوسبورين؛ ولعل ذلك يرجع إلى تجارب «لويس باستير» العلمية؛ التى جعلت الأذهان مستعدةً ومؤهلةً لاستقبال واستيعاب دور الأحياء الدقيقة فى حياة الإنسانية.

رابعاً :قلويدات الأرجوت: Ergot alkaloids

١- لمحة تاريخية:

خلال العصور الوسطى انتشرت عديد من الأوبئة المرضية كان أهمها مرضاً أطلق عليه اسم «الحمى الرهيبة Holy Fire»، أو حمى «القديس أنطونيو St.Anthony's Fire»، وفى ذلك الوقت لم يعرف سبب هذا المرض؛ لذا نسب إلى غضب الرب وإنزاله اللعنة على البشر المخطئين، واعتقد العامة أن الصلاة من خلال القديس أنطونيو تمكنهم من الشفاء.

والقديس أنطونيو St. Anthony –والذى يسمى القديس أنطونيوس المصرى Saint Anthony of Egypt (250-355?)– ناسك مصرى يعتبر أبا الرهبانيات فى التاريخ المسيحى، ومكث فترة فى مدينة Dauphine الفرنسية. ولقد شاعت أخبار معجزاته فى علاج المصابين بهذا المرض القاتل، حتى أطلق اسمه على هذا المرض (Dickinson & Lucas, 1983).

ولم يكتشف دورة حياة الفطر إلا فى منتصف القرن التاسع عشر بواسطة العالم Tu-lasne (1853)، ولكنه لم يعرف علاقة الأجسام الحجرية بحدوث التسمم، الذى شاع انتشاره فى فرنسا وألمانيا بدرجة كبيرة بالمقارنة بدول غرب أوروبا الأخرى، حيث كان انتشاره هناك محدوداً.

وكم عانى الأهالى فى فرنسا من هذا المرض، ففى عام ٩٤٤ ميلادية مات نحو أربعين ألف شخص من ذلك المرض، واستمرت المعاناة من انتشار المرض حتى عام

١٩٥١، حيث أصيب حوالى ٢٠٠ شخص فى مدينة Pont Saint Exprit بالتسمم الأرجوتى، مات منهم خمسة أفراد.



شكل (١٣٥) : رسم للقديس أنطونيوس المصرى يرجع تاريخها إلى القرن السادس عشر الميلادى، يظهر بها أحد المصابين بمرض التسمم الأرجوتى يرفع يده الملتهبة يناشد القديس المساعدة.

ولقد ارتبط ظهور هذا المرض بالخبز الذى يتم إعداده من حبوب الشيلم الملوثة بالأجسام الحجرية السوداء لفطر الأرجوت (*Claviceps purpurea*). وهذه الأجسام الحجرية تقضى فترة الشتاء على سنابل الشيلم. وهناك فطريات أخرى قريبة الصلة من هذا الفطر تكوّن مثل هذه الأجسام الحجرية الفتاكة.

ويصيب هذا الفطر مبايض الأزهار المتكونة؛ فلا تكوّن حبوبًا، ولكن يتكون بدلاً منها أجسام حجرية. وعندما يحل فصل الربيع ويعتدل الجو، تنبت هذه الأجسام الحجرية مكونةً حشياتٍ ثمريةً لحميةً تحمل أجساماً ثمريةً أسكيةً قارورية الشكل. وتعتبر الأجسام الحجرية -والتى يطلق عليها اسم أرجوتات- سامةً؛ نظراً لاحتوائها على أنواعٍ مختلفةٍ من القلويدات السامة **poisonous alkaloides**.

وعندما يتغذى إنسان أو حيوان على هذه الأرجوتات بكميةٍ كبيرةٍ- كما يحدث فى حالة طحن هذه الأرجوتات مع الحبوب الملوثة بها- فإن الدقيق الناتج الذى يستخدم فى صناعة الخبز يكون ساماً، وينتج عن تناوله تسمم أرجوتى يعرف باسم «**Ergotism**».

وتظهر الأعراض الناتجة عن هذا التسمم على الآدميين فى صورة تشنجاتٍ شديدة وآلامٍ غير محتملةٍ، وفقدِ الأطراف الناتج عن موت الأنسجة وحدوث غرغرينا. وقد يعانى المريض فقدان الشعور واختلاط العقل، والهلوسة، والصرع، كما يحدث إجهاض للسيدات الحوامل، وقد تؤدى مثل هذه الأعراض إلى الموت.

كما عانى المصابين بهذا التسمم من التهاباتٍ حادةٍ فى أطرافهم، وارتفاع حرارة هذه الأطراف لدرجة تبخر الماء المسكوب عليها من شدة الحرارة. كما يتآكل لحم هذه الأطراف، ويصبح لونها داكناً، وبعد ذلك تموت وتتساقط.

ولقد غير التسمم الأرجوتى مسار التاريخ فى أكثر من حادثة؛ ففى القرن الثامن عشر فشل قيصر روسيا بطرس الأكبر **Peter the Great (1672-1725)** -الذى جعل روسيا دولةً أوروبيةً ذات شأنٍ عظيمٍ، وأَسَّسَ مدينةَ بطرس بورج (لينتجراد حاليًا)- فى أن يستولى على بعض المدن الساحلية على شاطىء البحر الأسود عام ١٧٢٢؛ وذلك

بسبب تغذية جنوده على خبزٍ ملوثٍ بالأجسام الحجرية لفطر الأرجوت، كما تغذت خيولهم على علفٍ ملوثٍ.

وظهر التسمم الأرجوتى فى بعض الدول النامية ولكن بدرجاتٍ محدودة؛ كما حدث فى أثيوبيا نتيجة تناول خبزٍ مصنوعٍ من حبوب شعيرٍ ملوثةٍ بالأجسام الحجرية لفطر الأرجوت، وأيضاً فى الهند عندما تناول الأهالى هناك حبوب ميليت ملوثةً بهذه الأرجوتات القاتلة.

وكان آخر انتشار وبائى للتسمم الآرجوتى ماحدث خلال عامى ١٩٢٦-١٩٢٧؛ وذلك بسبب مجاعةٍ اجتاحت الأهالى بالاتحاد السوفيتى؛ فتغذوا على حبوب نباتاتٍ بريةٍ كانت مصابةً بهذا الفطر ذى الأجسام الحجرية السامة.

ومن السهولة بمكانٍ التعرف على تلك الأجسام الحجرية الكبيرة الحجم وسط حبوب النجيليات الملوثة بها. ومن الممكن التخلص من هذه الأجسام واستبعادها قبل طحن الحبوب. ولكن هذا لايحدث للحيوانات التى تتغذى على مايقدمه الإنسان لها من علف؛ فإذا ماتناول حيوانٍ ما مثل هذا العلف الملوث بالأجسام الحجرية، فإن جهازه العصبى يتأثر بشدةٍ، وقد يصاب بغرغرينا.

ويظهر على الخيول والأغنام تشنجات وتقلصات عضلية، يتبعها شلل. وقد يكون مصدر هذه الأجسام الحجرية رعى الحيوانات فى مناطق عشبية، بها حشائش برية لنباتاتٍ نجيليةٍ مصابةٍ بمرض الأرجوت.

ويرجع أسباب التسمم الأرجوتى إلى وجود قلويدات الإرجومترينين **ergometri-nine** وإرجوتامين **ergotamine** وإرجو تامينين **ergotaminine**. وعلى الرغم من سمية هذه المركبات عند تناولها بتركيزٍ مرتفعٍ، إلا أن التركيزات المنخفضة منها ذات تأثيراتٍ علاجيةٍ عظيمةٍ.

ويرجع تاريخ استخدام قلويدات الأرجوت فى النواحى الطبية إلى عام ١٥٨٢؛ حيث استخدمت خلال عملية الولادة؛ وذلك للإسراع من انقباض الرحم.

ويعتبر التأثير الرئيسى لهذه القلويدات تأثيراً مهدئاً sympathetic effect فى المقام الأول؛ وذلك نتيجة لتثبيط إفراز الهورمونات: أدرينالين adrenaline، ونور أدرينالين noradrenaline، وسكليروتين sclerotin؛ مما يؤدى إلى تمدد الأوعية الدموية؛ فينخفض ضغط الدم.

Name	R
Ergometrine (Ergobasine)	$-HN-C(CH_3)H-CH_2OH$
α -Hydroxyethyl-lysergamide	$-HN-CH(CH_3)-OH$
Lysergic acid	$-OH$
$\Delta^{8,9}$ -Lysergic acid ˣ	$-OH$

شكل (١٣٦) : تركيب بعض القلويدات البسيطة المشتقة من حمض الليسيرجيك lysergic acid.

(x- رابطة مزدوجة عند الوضع دلتا ٨-٩)

Name	R_1	R_2	R_3
Ergotamine	H	H	$CH_2-C_6H_5$
Ergosine	H	H	$CH_2CH(CH_3)_2$
Ergocristine	CH_3	CH_3	$CH_2-C_6H_5$
α - Ergocryptine	CH_3	CH_3	$CH_2CH(CH_3)_2$
β - Ergocryptine	CH_3	CH_3	$CH(CH_3)CH_2CH_3$
Ergocornine	CH_3	CH_3	$CH(CH_3)_2$
Ergostine	H	CH_3	$CH_2-C_6H_5$

شكل (١٣٧) : قلويدات الأرجوت الموجودة طبيعيًا من النوع الببتيدي (الأرجوببتينات er- gopeptins).

كما تؤثر هذه القلويدات على العضلات الملساء؛ مُوقفةً عمل الجهاز العصبى السمبثاوى sympathetic nervous system؛ ولهذا فإن هذه المركبات تستخدم لحث الرحم على الانقباض فى المرحلة الأولى من عملية الولادة، وأيضاً للإسراع بعودة الرحم إلى حجمه الطبيعى بعد الولادة.

وبالإضافة إلى ماسبق من تأثيرات طبية لقلويدات الأرجوت، فإنها تستعمل -أيضاً- فى علاج بعض حالات اختلال دورة الدم السطحية، وعلاج الصداع النصفى. ولقد أدى ذلك إلى شدة الطلب على هذه الأجسام الحجرية.

٢- المادة الفعالة:

يرجع سبب هذه التأثيرات الطبية القوية للأجسام الحجرية لفطر الأرجوت إلى وجود مادة Lysergic acid diethylamide (LSD)، والتى تعمل كمادةٍ مخدرةٍ intoxicant؛ وذلك فى التركيزات المنخفضة، والتى تقل عن ٢-٥ ميكروجرام.

وتتميز قلويدات الأرجوت بتركيبها البنائى المميز، والذى يطلق عليه اسم إرجولين ergolin؛ حيث يتركب من نظام رباعى الحلقات tetracyclic ring system يحتوى على حلقة إندول indole.

وهناك مجموعتان رئيسيتان من القلويدات، يمكن أن تُنْسبا إلى حمض اليسيرجيك lysergic acid، أو إلى النموذج كلافين clavine type؛ حيث يتوقف ذلك على مجموعة الذرات البديلة فى مركب إرجولين ergolin. ويوضح شكل (١٣٨) مراحل التخليق الحيوى لحلقة الإرجولين.

ويعتبر مركب إرجوتامين ergotamine هو أول مركبٍ قلويديٍّ تم استخلاصه بصورةٍ نقيةٍ من الأجسام الحجرية لفطر الأرجوت؛ حيث اشتقت منه مجموعة كبيرة من أكثر المركبات المستخدمة فى النواحى العلاجية. ويوجد أكثر من أربعين نوعاً من القلويدات التى تنتجها الفطريات التابعة للجنس *Claviceps* كما هو موضح فى جدول (٢٨).

شكل (١٣٨) : التخليق الحيوي لنظام حلقة الإرجولين ergoline ring .

I : ميفالونات Mevalonate .

II : ايزو بنتينيل بيروفوسفات Isopentenylpyrophosphate.

III : داي ميثيل اليل بيروفوسفات Dimethylallyl pyrophosphate .

IV : تريبتوفان Tryptophan .

V : ٤ـ داي ميثيل اليل تربتوفان 4- Dimethylallyltryptophan .

VI : شانو كلافين ـ١ chanoclavin -1 .

VII : أرجو كلافين Argoclavine .

VIII : اليموكلافين Elymoclavine .

IX : حمض دلتا ٨ـ٩ ليسيرجيك Δ 8-9 -Lysergic acid .

X : حمض ليسيرجيك Lysergic acid .

XI : ليسرجيل الانين Lysergylalanine .

XII : الفاهيدروكسي ايثيلليسيرجاميد α -Hydroxyethllysergamide .

XIII : ارجومترين Ergometrine .

جدول (٢٨) بعض الفطريات المنتجه لقلويدات الارجوت وأنواع القلويدات المنتجه.

نوع الفطر	النبات العائل	النسبة المئوية للقلويدات المنتجه	المركبات القلويديه الرئيسيه المنتجه
Claviceps purpurea	القمح، الشعير، الشوفان وخلافه	٠,١ — ٠,٥	مجموعة سموم الارجوت: **Ergocornine** **Ergocryptine, Ergocristine** مجموعة الارجوتامين : **Ergotamine, Ergosine**
C. gigantea	الذره	٠,٠٣	**Festuclavine, Pyroclavine** **Dehydroelymoclavine** **Chanoclavine**
C. paspali	*Paspalum spp.*	٠,٠٠٣	**D- lysergic acid** **α- hydroxyethyllysergamide**
C. fusiformis	*Pennisetum typhoides*	٠,٣	**Ergometrine, Agroclavine,** **Elymoclavine, chanoclavine**

٣- الإنتاج التجارى:

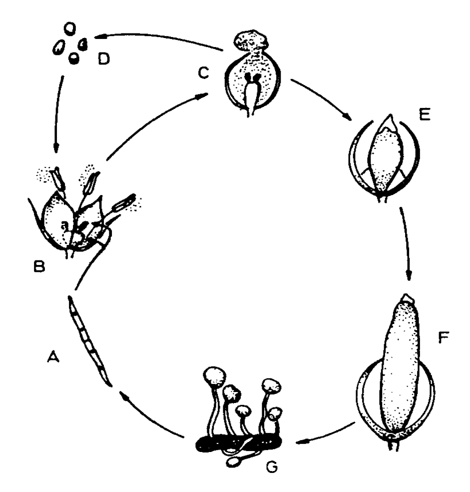
يعتبر المصدر التقليدى لقلويدات الأرجوت هو الأجسام الحجرية الموجودة على سنابل بعض النباتات النجيلية المصابة بالفطر *Claviceps purpurea*. وعندما زاد الطلب على هذه الأجسام الحجرية، اهتمت بعض شركات الأدوية بعدوى بعض النباتات النجيلية بجراثيم هذا الفطر؛ للحصول على محصولٍ أعلى من الأرجوتات.

ولقد استمر هذا الأسلوب فى الحصول على الأجسام الحجرية العظيمة القيمة العلاجية حتى عام ١٩٨٠، إلا أنه بعد ذلك الحين لم يعد الإنتاج التقليدى كافياً لتلبية الاحتياجات المتزايدة من قلويدات الأرجوت، وخاصةً بعد ماكتشفت الخواص الطبية لهذا المركب ومشتقاته.

وقد وجد أن عدوى النباتات النجيلية بجراثيم فطر الأرجوت تحت ظروف الحقل يحوطها كثير من الأخطار، كما أنها تعتمد على الظروف البيئية التى تحيط بالحقل وقت العدوى، والتى تحدد تكوين الأجسام الحجرية للفطر الممرض. وعلى أية حالٍ، فإنه لم يكن فى الإمكان الحصول على أكثر من محصولٍ واحدٍ من هذه الأجسام الحجرية سنوياً.

وحالياً تنتج قلويدات الأرجوت عن طريق تنمية بعض الأنواع التابعة للجنس *Claviceps* على بيئةٍ غذائيةٍ سائلةٍ فى المعمل؛ سواء على دفعات، أم بالطريقة المستمرة أو بالخلايا الساكنة؛ حيث أمكن إنتاج مركب أجروكلافين **agroclavine** بمعدل ٤-٥,٦ ملليجرام لكل ملليلتر بيئة؛ وذلك عند إنماء الفطر *C.fusiformis*، بينما بعض سلالات الفطر *C.paspali* يمكنها إنتاج حوالى ٢ ملليجرام من حمض الليسيرجيك **Lysergic acid** لكل ملليلتر بيئة.

وبعد هذا النجاح الذى تم إنجازه فى المعامل، أمكن إنتاج قلويدات الأرجوت تجارياً عن طريق تقنية التخمرات الفطرية، ولكن يجب أن يوضع فى الحسبان أن تكوين قلويدات الأرجوت فى الأنواع التابعة للجنس *Claviceps* يتم خلال مرحلة تكوين الفطر لأجسامه الحجرية، وليس قبل ذلك.



شكل (١٣٩) : دورة حياة فطر الأرجوت Ergot (*Claviceps purpurea*) .

A – جرثومة أسكية ascospore إبرية الشكل.

B – عدوى أزهار الشيلم (الشوفان) .

C – نمو هيفات الفطر فى مبيض الزهرة.

D – إفراز الجراثيم اللاجنسية مع الندوة العسلية مسببة إصابة إضافية دون تكوين قلويدات.

E – تجمع هيفات الفطر لتكوين الأجسام الحجرية مع بداية تخليق قلويدات الإرجوت.

F – نضج الأجسام الحجرية خلال شهرين.

G – تكوين الطور الجنسى (الأجسام الثمرية الأسكية القارورية المنغمدة فى الحشيات الثمرية) .

وكذلك أمكن تحسين بعض سلالات الأنواع التابعة للجنس *Claviceps* العالية الإنتاج للقلويدات؛ وذلك عن طريق تحفيزها على التطفر، سواء بتعريض جراثيمها للأشعة فوق البنفسيجية، أم لأشعة جاما، أم للكيماويات المطفرة، ثم يلى ذلك اختيار أفضل السلالات الناتجة من الجراثيم التى تبقى محتفظةً بحيويتها.

وبالإضافة إلى ماسبق، اتبعت تقنية نقل الصفات الوراثية المرغوبة عن طريق البلازميدات، وينتظر أن تحقق هذه التقنية زيادة معدلات إنتاج هذه المركبات الحيوية الهامة فى المستقبل القريب.

ويتم الإنتاج التجارى لقلويدات الأرجوت عن طريق إنماء ميسليوم السلالة الفطرية فى بيئة سائلة داخل أوعية تخمر عملاقة؛ تسع الواحدة منها نحو ٣٠ ألف لتر. وعندما ينمو هذا الميسليوم الفطرى فى البيئة السائلة، فإنه يتميز إلى خلايا تشابه تلك الموجودة داخل الأجسام الحجرية، دون أن تتكون أجسام حجرية حقيقية.

ويستعمل التربتوفان **tryptophan** كمادة محفزة لإنتاج قلويدات الأرجوت؛ حيث يزداد الإنتاج عند إضافته إلى البيئة المستخدمة فى تنمية الفطر. ويفضل استخدام مصدر كربونىّ بطىء فى تمثيله الغذائى للفطر؛ مثل المانيتول أو السكروز، كما أن ارتفاع تركيز المواد الكربوهيدراتية يعمل على زيادة الضغط الآسموزى؛ مما يثبط تكوين كونيديات الفطر، بينما يؤدى إلى زيادة تكوين الخلايا الشبيهة بالأجسام الحجرية **sclerotia-like cells**. ويجب توفر أحد الأحماض الثلاثية الكربوكسيل، أو مشابهاتها مثل السترات.

وهناك احتياجات أخرى للفطر عند إنمائه فى بيئة التخمر؛ مثل توفُّر مصدر جيد للنيتروجين -كالأمونيا- وأيضاً كميات محدودة من الأيونات المعدنية؛ مثل الحديد Fe^{++} والماغنسيوم Mg^{++}، والزنك Zn^{++}، والتى يحتاج إليها الفطر فى نشاطه الإنزيمى. ويتم التحكم فى انتاج قلويدات الأرجوت عن طريق الفوسفات؛ حيث يجب أن يكون تركيزها منخفضاً للغاية فى البيئة، أو أن تكون البيئة خالية منه لكى يكون الإنتاج مثالياً.

وحيث إن قلويدات الإرجوت تختلف فيما بينها فى أنواع الأحماض الأمينية التى تكوّن سلاسلها الجانبية، فإنه يمكن الحصول على إنتاج عالٍ من هذه القلويدات؛ وذلك عن طريق تنظيم نِسَب الأحماض الأمينية التى تجب إضافتها إلى بيئة التخمر التى ينمو فيها الفطر.

ويحتاج تكوين هذه المركبات بواسطة فطر الإرجوت إلى توفر ظروف تهويةٍ جيدةٍ؛ حيث يتم ذلك عن طريق دفع الهواء المحمل بالأكسوجين خلال البيئة السائلة. كما يجب أن تكون حرارة البيئة حوالى ٢٤ْم، ورقم الحموضة ٥,٥. وتستمر فترة التخمر بين ١٢ يومًا و ١٦ يومًا؛ حيث يصل تكوين قلويدات الأرجوت إلى المرحلة النهائية، ثم يتم استخلاص هذه المواد من البيئة باستعمال بعض المذيبات العضوية.

خامساً: الفطريات السامة:

يمكن القول إن السمية الناتجة عن تناول الأجسام الحجرية لفطر الإرجوت أصبحت نسياً منسياً فى ذاكرة البشرية، وجزءاً من الماضى البعيد فى دول العالم التى تعتمد على حبوب الشيلم فى غذائها.

إلا أن مشاكل البشرية مع السموم الفطرية لم تنته بمجرد معرفة التأثير السام للأجسام الحجرية لفطر الإرجوت؛ فمازال التسمم الفطرى mycetism الناشىء عن تناول فطريات عيش الغراب السامة فى تزايد عاماً بعد آخر، وخاصةً مع تزايد اهتمام الأفراد بجمع ثمار عيش الغراب البرية وأكلها، دون التفرقة بين الأنواع المأكولة المأمونة العاقبة والأنواع الأخرى السامة.

وحيث إنه لاتوجد قواعد عامة يمكن الاعتماد عليها فى التفرقة بين الأنواع المأكولة، والأخرى السامة من عيش الغراب؛ فإن خطورة الأنواع السامة سوف تظل مصدراً لخطرٍ حقيقيٍّ على صحة وحياة هؤلاء المهتمين بجمع ثمار عيش الغراب البرية من أماكن انتشارها، وخاصةً أن هذه السموم الفطرية لايمكن إزالتها أو تخفيف آثارها بالغسيل أو الطهى.

وعلى ذلك، فإن السبيل الوحيد لتجنب التسمم ببعض أنواع فطـريات عيـش الغراب البرية هو التعرف على الأنواع المأكولة وجمعها، وتجنب أية أنواع أخرى مجهولةٍ أو ليست مألوفةً. ولقد انتشرت كثير من الجمعيات الأهلية فى أوروبا والولايات المتحدة؛ حيث تعمل هذه الجمعيات على توضيح شكل الأنواع المأكولة من عيش الغراب البرى وأماكن انتشارها، كما يلجأ الأعضاء الجدد إلى الخبراء للتعلم؛ حيث إن الخطأ الأول ــ فى مثل هذه الحالات ــ قد يكون آخر الأخطار التى يرتكبها الإنسان فى حياته.

ويعتمد على شكل ولون ثمار عيش الغراب البرية فى تحديد نوعها وقيمتها من الناحية الغذائية، أو مدى خطورتها على صحة وحياة الإنسان؛ لذا يجب -عند تعريف هذه الأنواع البرية من فطريات عيش الغراب- أن تكون الثمار كاملةً غير ممزقةٍ، وغير تالفةٍ، حتى يكون تعريفها والحكم على صلاحيتها كطعام حكماً سليماً.

وهناك أنواع أخرى من فطريات عيش الغراب البرية تتميز بتأثيرها على عقل الإنسان وإدراكه **hallucinogenic mushroom**؛ مثال ذلك بعض الأنواع التابعة للجنس *Psilo-cybe*، وإن كان بعض المهتمين بجمع ثمار عيش الغراب البرية يجدُّون فى طلبها واستهلاكها بأنفسهم، أو بيعها للآخرين بصورةٍ غير قانونيةٍ؛ نظراً لتأثيراتها على الصحة النفسية للأفراد.

وعلى الرغم من انتشار مثل هذه الأنواع السامة من فطريات عيش الغراب وغيرها من الفطريات الهيفية، إلا أن الاستفادة من هذه السموم فيما يفيد البشرية مازال فى مراحله الأولى، وإن كانت هناك بعض الأمثلة التى يمكن الإشارة إليها.

فعلى سبيل المثال، أظهرت الدراسات العلمية الحديثة أن الجرعات الصغيرة من بعض فطريات عيش الغراب السامة -مثل فطر عيش غراب الذبابة *Amanita muscar-ia*- ذات تأثيرٍ مهدىء للأعصاب، وتساعد على النوم الهادىء. بينما يمكن استعمال تحضيرات من فطر عيش الغراب السام *Inocybe fastigiata* فى علاج بعض الأمراض الجلدية مثل أنواع معينة من الإكزيما.

وكذلك الحال فى التوكسينات التى تفرزها بعض الفطريات الهيفية، مثل مادة أفلاتوكسين B_1، والتى يفرزها الفطر *Aspergillus flavus* والفطر *A.parasiticus*، فلقد أثبت البحث العلمى الحديث أن هذا التوكسين ذو تأثير محدود لإيقاف نشاط تكوين بعض الأورام **weak antitumour effects**. وأيضا لوحظ مثل هذا التأثير على

تثبيط نمو مختلف الأورام الخبيثة التى تتكون فى الأنسجة الضامة لفئران التجارب وذلك عن طريق توكسينات بعض الفطريات الهيفية الأخرى.

ويمكن تقسيم السموم الفطرية تبعاً لتأثيرها على جسم الإنسان وأعضائه المختلفة، وأيضاً حسب تركيبها الكيميائى إلى مايلى: -

١ - السموم الفطرية المحللة لخلايا الجسم cytolytic poisoning:

أ- الببتيدات الحلقية cyclopeptides:

تعتبر الأماتوكسينات **amatoxins** من أهم المركبات السامة التابعة للببتيدات الحلقية، والتى يتبعها المركبان ألفا وبيتا أمانيتين **α.-amanitin and ß-amanitin**. والمركبان السابقان ثابتان حرارياً، ويستمر تأثيرهما السام حتى بعد الطهى الجيد للثمار المحتوية عليهما، وأيضاً فى الثمار بعد تجفيفها.

وتظهر أعراض التسمم بمركبات الأماتوكسينات بعد حوالى ٨ ساعاتٍ - ١٥ ساعة من تناول ثمار عيش الغراب المحتوية عليها؛ حيث تتميز الأعراض الناتجة بالاضطرابات المعوية، خاصة آلام البطن، والغثيان، والقيىء، والإسهال. وقد تستمر هذه الأعراض ويعانيها المريض خلال اليوم التالى من تناوله لثمار عيش الغراب السامة المحتوية على هذه المركبات، فإذا حل اليوم الثالث، أصيب الكبد بتلفٍ شديدٍ، وينتهى الأمر -عادةً- بالوفاة.

وتنتج مثل هذه التوكسينات بواسطة فطر عيش غراب القبعة المميتة **Death cap-mushroom** (***Amanita phalloides***)؛ وهو من أكثر فطريات عيش الغراب السامة شهرةً من ناحية تأثيره المميت على ضحاياه؛ ممن يجمعون ثماره ويأكلونها عن طريق الخطأ.

وبالإضافة إلى ماسبق، يجب أن يدرك الأفراد المهتمون بجمع ثمار عيش الغراب البرية بالأنواع القريبة الصلة والتابعة لنفس الجنس، والتى تختلف فيما بينها اختلافاً كبيراً من ناحية تأثيرها على صحة آكليها، على الرغم من تشابهها فى الشكل واللون إلى حدٍ بعيدٍ.

ب- الأوريلانين orellanin:

يطلق المصطلح «أوريلانين» على مجموعةٍ من المركبات السامة الثابتة حرارياً والمقاومة لعوامل الجفاف؛ مثال ذلك: مركبات orellanine و grzymaline، و cor-tinarine، بالإضافة إلى مركبين يتبعان مجموعة البنزونينات benzonines.

ويتميز التسمم بمثل هذه المركبات بتأثيره على الجهاز الهضمي للإنسان، تتبعه أعراض من التشنجات العضلية مصحوبةً بصداعٍ وآلامٍ في الظهر. وتسبب هذه السموم (التوكسينات) الفشل الكلوي خلال ٧–١٧ يوماً من تناول هذه الثمار السامة، وخاصةً تلك التابعة للجنس *Cortinarius*؛ مثل الفطر *C.speciosissimus*.

جـ- الجيرومترين Gyromitrin:

عند تحليل هذا المركب السام تحليلاً مائياً ينتج عنه أحادي ميثيل هيدرازين mono-methylhydrazine(شكل ١٤٠). وحيث إن مركب الجيرومترين موجوداً في بعض الفطريات، فإن تحليله المائي يرتبط برقم الحموضة؛ حيث يحدث ذلك –عادةً– بعد تناول ثمار هذا الفطر تحت فعل حموضة المعدة.

ويتميز الجيرومترين بعدم ثباته حرارياً، ويمكن إبطال فاعليته بسلق الثمار سلقاً جيداً، ثم التخلص من ماء السلق. وعند تناول هذه الثمار طازجةً أو مطهوةً طهياً خفيفاً، فإن المادة السامة تكون فعالةً، وتؤثر على المعدة بعد حوالي ستّ ساعات من تناولها، ثم تتأثر الكلى، كما يتأثر الكبد بعد ذلك.

ويعتبر أحادي ميثيل الهيدرازين مادةً سامةً أيضاً؛ حيث يؤثر على الجهاز العصبي المركزي the central nervous system، كما يعتبر هذا التوكسين هو الوحيد من السموم الفطرية التي تتميز بإحداث حمى شديدةٍ. ومن أهم فطريات عيش الغراب السامة المحتوية على هذا التوكسين فطر عيش غراب المورشيلا الكاذبة (*Gyromitra es-culenta*).

٢- السموم الفطرية المحللة لخلايا الدم Haemolytic poisoning:

تعمل هذه السموم على تلف خلايا الدم الحمراء؛ مما يتسبب فى حدوث أنيميا. وليس من المعروف- على وجه التحديد- نوع المركب المسئول عن هذا التلف، ولكن من المحتمل أن يكون فالوليسين phallolysin.

ومعظم المركبات المؤثرة على الدم حساسة لدرجة الحرارة العالية؛ مما يتلفها إذا تم طهى الثمار المحتوية عليها. ومن فطريات عيش الغراب السامة التى تحتوى على المركبات المؤثرة على الدم فطر عيش الغراب الخجول (*Amanita rubescens*) Blushermushroom، وفطر عيش غراب الفتاة الفرنسية (*Amanita vaginata*) Grisette mushroom.

٣- سموم الكوبرين Coprine toxins:

هناك عديد من أنواع فطريات عيش الغراب المأكولة التابعة للجنس *Coprinus*؛ والتى تتميز بطعمها اللذيذ، إلا أنها تسبب أعراض تسمم عندما تؤكل ويُشْرب معها -فى الوقت نفسه- مشروبات كحولية.

وتتميز أعراض السمية فى هذه الحالة بوجود طعم معدنىّ فى فم الإنسان، يصاحبه احمرار الوجه والرقبة، وآلام الصدر، مع الشعور بدوّار (دوخة)، بالإضافة إلى قيىء وإسهالٍ. وتبقى هذه الأعراض لمدة حوالى ساعتين، إلا أنها تعود مرةً أخرى إذا تناول الإنسان مشروباً كحولياً خلال الـ ٤٨ ساعةً التالية للتسمم.

ويعرف مركب التسمم باسم كوبرين coprine؛ وهو موجود فى فطر عيش الغراب ذى القبعة الحبرية المألوف (العادى) common ink cap، (*Coprinus atramentarius*)وفطر عيش غراب فليوتا ذى اللحية الشعثاء (*Pholiota squarrosa*) shaggy pholilta.

$$CH_3CH=N-N(CH_3)(CHO) \xrightarrow{H_2O} H_2N-N(CH_3)(H)$$

شكل (١٤٠) : تحول مركب الجيرومتيرين gyromitrin إلى أحادى ميثيل هيدرازين monomethylh-drazine.

$$^{-}O-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-\overset{NH_3^{+}}{\overset{|}{CH}}-(CH_2)_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-NH-C(HO)(\text{cyclopropyl})$$

شكل (١٤١) : سم الكوبرين Coprine.

٤- السموم الفطرية المؤثرة على العقل والإدراك Psychotropic toxins:

تؤثر هذه التوكسينات على الجهاز العصبى المركزى central nervous system؛ مسببةً اختلاط العقل (هلوسة hallucinations) وهذيان delirium.

أ- الموسكيمول وحمض الإيبوتينيك والموسكازون:

تعتبر هذه المركبات muscimol, ibotenic acid and muscazone من مشتقات الأيزوكسازول isoxazole derivatives؛ حيث يعتبر توكسين الموسكيمول أكثر هذه المركبات سميةً. وينحصر وجود هذه المركبات فى أنواع فطريات عيش الغراب التابعة للجنس *Amanita*.

ويتشابه تأثير هذه السموم الفطرية مع تأثير تناول المشروبات الكحولية؛ مثل الميل للنوم (النعاس) والتى تصل -فى الحالات الشديدة- إلى الغيبوبة وفقدان الوعى. ومن أكثر فطريات عيش الغراب -المحتوية على مثل هذه السموم- شهرةً فطر عيش غراب الذبابة fly agaric (*Amanita muscaria*)، وفطر عيش الغراب المدرع panther cap mushroom (*Amanita pantherina*).

ب- السموم الفطرية المحتوية على مجموعة الإندول Indole group toxins:

يزداد التأثير بالتوكسينات المحتوية على مجموعة الإندول -مثل سيلوسين وسيلوسيبين psilocin and psilocybin- لدى الأشخاص الشديدى الحساسية؛ حيث يظهر عليهم أعراض تُشابه تلك الأعراض الناتجة عن تناول المشروبات الكحولية.

وتستعمل فطريات عيش الغراب المحتوية على مثل هذه السموم كعقارٍ مهدىءٍ مزيلٍ للتوتر recreational drug؛ مثال ذلك فطر عيش الغراب ذى القبعة الحرة liberty cap mushroom (*Psilocybe semilanceata*)، وفطر عيش غراب الرءوس الذهبية golden tops mushroom -عيش الغراب السحرى magic mushroom- (*Psilocybe cubensis*) بالإضافة إلى بعض أنواع عيش الغراب التابعة للجنس *Panaeolus*..

Psilocin

Psilocybin

شكل (١٤٢): سموم سيلوسين وسيلوسيبين التى يكونها فطر عيش الغراب ذو الرءوس الذهبية *Psilocybe cubensis*.

	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
Phalloidin	-OH	-H	$-CH_3$	$-CH_3$	-OH
Phalloin	-H	-H	$-CH_3$	$-CH_3$	-OH
Phallisin	-OH	-OH	$-CH_3$	$-CH_3$	-OH
Phallacidin	-OH	-H	$-CH(CH_3)_2$	-COOH	-OH
Phallacin	-H	-H	$-CH(CH_3)_2$	-COOH	-OH
Phallisacin	-OH	-OH	$-CH(CH_3)_2$	-COOH	-OH
Phallin B	-H	-H	$-CH_2C_6H_5$	-CH	-H

شكل (١٤٣) : سموم الفالوتوكسينات **phallotoxins** .

جـ- الهوردينين، التيرامين و ن - ميثيل تيرامين :

يحتوى قليل من الفطريات على مثل هذه المركبات القلويدية **hordenine, N-methyltyramine and tyramine** التى تسبب غثياناً، بالإضافة إلى تأثيرها على الجهاز العصبى المركزى مسببةً الشعور بالدوّار. وتوجد هذه التوكسينات فى فطر عيش الغراب الثقبى ذى اللون الأصفر الكبريتى **sulphure pol-** (***Laetiporus sulphureus***)

ypore، وفطر عيش الغراب الثقبى العملاق giant poly- (*Meripilus giganteus*) pore.

د- سموم الماسكارين Mascarine toxins:

يؤدى تناول فطريات عيش الغراب المحتوية على القلويد السام «ماسكارين» إلى زيادة نشاط الغدد العرقية خلال ساعتين من الهضم؛ فيزيد العرق، مع حدوث إسهالٍ، والشعور بالغثيان، وقد تحدث -فى بعض الحالات- رؤية أشياء غير واضحةٍ وتهيؤاتٍ.

وينصح عادةً - عند التعرض لمثل الحالات السابقة- بحقن المصاب بالأتروبين at-ropine كعلاجٍ ناجحٍ. وتوجد هذه التوكسينات فى بعض فطريات عيش الغراب السامة؛ مثل: فطر عيش غراب الذبابة *Amanita muscaria*، وفطر عيش الغراب المدرع *Amanita pantherina* بالإضافة إلى فطر *Clitocybe dealbata*، وبعض الأنواع التابعة للجنس *Inocybe*.

٥- حالات أخرى من التسمم العيش غرابى:

وبالإضافة إلى ماسبق، يمكن أن تكون أعراض السمية التى تظهر على بعض الأفراد الذين يتناولون ثمار عيش غرابٍ سامةً ناتجةً من وجود مواد مسببةٍ للاضطرابات المعوية، ولوجود حمض الهيدروسيانيك hydrocyanic acid، بالإضافة إلى بعض المضادات الحيوية التى تنتجها مثل هذه الفطريات الراقية.

وهناك نوع من الحساسية يبديها بعض الأفراد عند تناولهم أنواعاً معينةً من ثمار عيش الغراب، على الرغم من أنها لأنواعٍ مأكولةٍ وغير ضارةٍ، ولا تسبب أية أعراضٍ مرضيةٍ للعامة. وربما تشبه هذه الحساسية مايظهر على بعض الأفراد عند تناولهم أطعمةً معينةً، مثل الشيكولاتة أو الفراولة.

Ibotenic acid

Muscimol

Muscarine

	R_1	R_2	R_3	R_4
α - amanitin	-OH	-OH	$-NH_2$	-OH
β - amanitin	-OH	-OH	-OH	-OH
γ - amanitin	-OH	-H	$-NH_2$	-OH
ε - amanitin	-OH	-H	-OH	-OH
Amanin	-OH	-OH	-OH	-H
Amanullin	-H	-H	$-NH_2$	-OH
Amaninamide	-OH	-OH	$-NH_2$	-H

Amatoxins

شكل (١٤٢) : بعض السموم (التوكسينات) التى تكونها الأنواع السامة لفطريات عيش الغراب من الجنس *Amanita*.

سادساً: سموم الأفلاتوكسينات:

١- لمحة تاريخية :

فى إحدى مزارع الديوك الرومية القريبة من لندن، ظهرت أعراض غريبة على الطيور المرباة، ثم مات نحو ١٠٠ ألف طائرٍ فى شهورٍ قليلةٍ من عام ١٩٦٠. وعلى الرغم من حجم هذه الكارثة، إلا أن هذه الأعراض لم تظهر فى المزارع الأخرى الموجودة فى إنجلترا. ولقد أطلق العلماء على هذا المرض اسم مرض الديوك الرومية المجهول **turkey x-disease**؛ نظراً لجهلهم بالمسبب.

وبعد ذلك بسنواتٍ، أدرك العلماء أن هذه الطيور كانت قد تغذت على علفٍ أنتج من أحد مصانع العلف فى لندن؛ حيث تم تصنيع العلف من كُسب الفول السودانى؛ والذى كانت حبوبه ملوثةً بفطر نُمى عليها؛ مفرزاً سمومه القاتلة فيها.

وتم عزل هذا الفطر وتنقيته، ثم عرف أنه ***Aspergillus flavus***؛ لذا اشتق من اسم هذا الفطر اسم التوكسين **A.fla-toxin**، وأصبح بعد ذلك معروفًا باسم أفلاتوكسين **aflatoxin**.

ومنذ ذلك الحين أمكن التعرف على هذا التوكسين فى جميع أنحاء العالم، وملاحظة آثاره السيئة على صحة الإنسان وحيوانات المزرعة التى يقوم بتربيتها. وأظهرت الدراسات ــ بعد ذلك ــ أن الأفلاتوكسين من أقوى المواد المشجعة لحدوث الطفرات **mutagenic agent** ذات التأثيرِ المسرطنِ **carcinogenic agent**؛ التى توجد فى الطبيعة.

وتعتبر الأفلاتوكسينات مركباتٍ متنوعة التركيب، تنتج من عديدٍ من الأنواع

التابعة للجنس *Aspergillus*؛ مثل الفطر *A.parasiticus*. وينتشر وجود هذه الفطريات المنتجة للأفلاتوكسينات ملوثةً لبذور الفول السوداني، وبذور القطن، هذا بالإضافة إلى عديدٍ من الثمار البندقة؛ مثل البندق، واللوز، وعين الجمل، والبكان، وغيرها.

وينتشر وجود هذه الفطريات على حبوب الذرة والقمح وغيرها من أنواع الحبوب الأخرى، وخاصةً عند تخزينها فى ظروف الرطوبة العالية؛ حيث تنمو مثل هذه الفطريات مفرزةً سموم الأفلاتوكسين على الحبوب، مسببةً مشكلاتٍ صحيةً لاحصر لها لمن يتغذى عليها، سواء أكان إنساناً أم حيواناً.

٢- تركيب الأفلاتوكسينات:

تشترك هذه المجموعة من السموم الفطرية فى تركيبها الجزيئى الأساسى؛ حيث تعتبر مشتقات كومارين عالية الأكسوجين، ذات حلقة مختلطة **highly oxygenated coumarin-derivative heterocyclic compounds**.

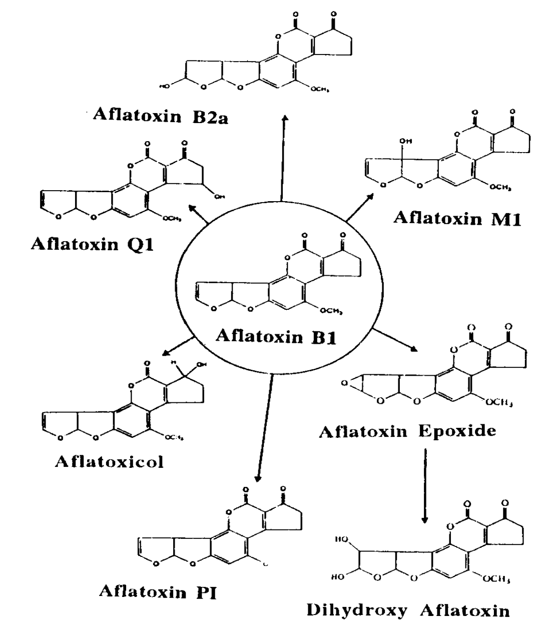
ولقد وجد أن معظم سموم الأفلاتوكسين الموجودة فى الأغذية ذات المنشأ النباتى هى من أنواع أفلاتوكسين **G،B**. وترجع هذه التسمية إلى لون الضوء الفلورسنتى المنعكس عند تعريض الأغذية المحتوية على سم الأفلاتوكسين إلى الأشعة فوق البنفسجية؛ حيث يعكس أفلاتوكسين **B** لوناً فلورسنتياً أزرق **blue (B)**، بينما يعكس أفلاتوكسين **G** لوناً أخضر **green (G)**.

ويعتبر أفلاتوكسين B_1 (AFB_1) هو أكثر أنواع سموم الأفلاتوكسينات انتشاراً فى الطبيعة، وأكثرها سمية للإنسان والحيوان، فإذا ما لوث هذا التوكسين علف أحد الحيوانات وتغذى عليه، فإن هذا التوكسين يهضم داخل معدة الحيوان، ويتحول غذائياً إلى أفلاتوكسين **M (metabolic aflatoxin)**. ويوضح شكل (١٤٦) نواتج التمثيل الغذائى للافلاتوكسين B_1

AFB_1 AFG_1

AFB_2 AFG_2

شكل (١٤٥) تركيب أنواع الافلاتوكسين الأساسية.



شكل (١٤٦) نواتج تمثيل الافلاتوكسين ب١ (AFB_1).

وهناك أنواع مختلفة من نواتج التحول الغذائى للأفلاتوكسينات AFM داخل معدة الحيوان، لعل أخطرها هو AFM_1. وترجع خطورة هذا التوكسين إلى قدرته على الانتقال إلى الأجيال الجديدة للحيوانات الثديية عن طريق لبن الأم.

ويعتبر التوكسين AFM_1 أقل سمية من التوكسين AFB_1، وعلى الرغم من ذلك فإن التوكسين الأول يهدد حياة الأطفال الحديثى الولادة؛ حيث يرجع ذلك إلى أنهم أكثر حساسية لتأثير الأفلاتوكسينات؛ بالمقارنة بالبالغين، وينطبق ذلك ـ بطبيعة الحال ـ علي الحيوانات الصغيرة الرضيعة.

وهكذا يلعب اللبن الملوث بسموم الافلاتوكسين المتحولة غذائياً AFM_1-الناتج عن حيوانات (أبقار) تغذت على علف ملوث بالفطريات المنتجة لهذه السموم- دوراً خطيراً على صحة الإنسان، وخاصة الأطفال الذين يعتمدون على هذا اللبن فى غذائهم.

ويعتبر هذا النوع من السموم (AFM_1) ثابتاً، ويظل محتفظاً بخطورته على صحة الإنسان حتى بعد تجفيف اللبن، وأيضاً بعد تصنيعه على صورة منتجات غذائية؛ مثل الجبن أو الزبادى، وهكذا تستمر خطورة هذه السموم على صحة الإنسان.

٣- إنتاج الأفلاتوكسينات:

يتم إنتاج هذه السموم كنواتج للتمثيل الغذائى الثانوى لنوعين من الفطريات التابعة للجنس ***Aspergillus***؛ هما ***A.flavus*** و ***A.parasiticus***. ولاتتكون هذه السموم فى جميع حالات نمو الفطرين السابقين، ولايعنى عزل أحدهما من حبوب أو عينات نباتية وجود التوكسين -بالضرورة- عليها.

ولايتم تكوين الفطر لهذه السموم إلا تحت ظروف بيئية محددة؛ مثل ارتفاع الرطوبة، ودرجات الحرارة الملائمة، ووجود إصابة حشرية، وغير ذلك من عوامل تؤدى إلى تغيير المسارات الحيوية للتمثيل الغذائى للفطر وتكوين الأفلاتوكسينات.

ويعتبر الفطر ***A.flavus*** مسئولاً عن إفراز هذه السموم فى المناطق المعتدلة من العالم، فى حين أنه فى المناطق الاستوائية وتحت الاستوائية يلعب الفطر ***A.parasiticus*** دوراً كبيراً فى هذا المجال.

وينتشر نوعا الفطر ***Aspergillus*** –المفرزان للأفلاتوكسينات– فى التربة الزراعية؛ حيث يترممان على المخلفات العضوية الموجودة بها. كما يلوث هذان الفطران الحبوب المخزونة وغيرها من الأغذية ذات الأصل النباتى خلال فترة تخزينها. وفى بعض الأحيان يهاجم هذان الفطران بعض النباتات الحية، ويتطفلان عليها.

فعلى سبيل المثال، يهاجم الفطر ***A.flavus*** بذور الفول السودانى والقطن وحبوب الذرة أثناء تكوينها فى الحقل، كما يمكن أن تغزو هيفات هذا الفطر الأنسجة النباتية من خلال الجروح التى تحدثها الحشرات، وتنمو هيفاتها كإصابة ثانوية.

وقد يغزو ميسليوم الفطر جنين البذرة (الحبة)، دون أى عائق؛ فإذا تم تكوين البذور (الحبوب) وخزنت فى مخازن سيئة التهوية ذات رطوبة نسبية عالية، فإن هذا الميسليوم يستكمل نموه تحت هذه الظروف؛ منتجاً سموم الأفلاتوكسين.

وينتج الفطر هذه المواد السامة عند درجات حرارة تتراوح بين ١٢°م و ٤٢°م، فإذا ارتفعت درجة الحرارة عن ذلك، استمر النمو الفطرى دون أن تتكون الأفلاتوكسينات، كما يؤدى انخفاض رطوبة الحبوب إلى عدم تكوين مزيد من هذه السموم.

٤– سمية الأفلاتوكسينات:

يمكن للأفلاتوكسينات إحداث تأثيرات سامة مختلفة على الحيوانات الفقارية؛ مثل: طفرات جينومية **genomic mutations**، وتشوهات كروموسومية **chromosomal abnormalities**، وتشوهات خلقية **developmental abnormalities** فى الجنين قبل الولادة أو بعدها، وخفض لجهاز المناعة **suppression of immune system**، بالإضافة إلى احداث مرض السرطان **cancer**.

ولقد أظهر البحث العلمى أن أكثر التأثيرات السيئة –الناتجة من هضم سموم الأفلاتوكسين– هى مرض سرطان الكبد فى الإنسان والحيوانات الأليفة.

ويؤدى تناول أغذية ملوثة بمستويات منخفضة من الأفلاتوكسينات (حوالى ١٥ جزءاً فى المليون)– لفترات طويلة من الوقت– إلى حدوث تورمات فى الكبد فى

معظم الحيوانات الفقارية بما فيها الإنسان نتيجة التأثير التراكمى، وفى إحدى الدراسات التى أجريت على تغذية أسماك السلمون الملونة بألوان قوس قزح **rainbow trout**، أوضحت النتائج أن تلوُّث علف هذه الأسماك -بتركيز نصف جزءٍ فى المليون من سموم الأفلاتوكسين- أدى إلى إصابتها بسرطان الكبد، ثم ماتت هذه الأسماك بعد فترةٍ وجيزةٍ.

وكم عانت حيوانات المزرعة -مثل الماشية، والخيل، وأيضا الدواجن- أعراضاً سميةً ظهرت عليها فجأة نتيجة تناولها علفاً فاسداً؛ نُمِّى عليه بعض الفطريات المنتجة لسموم الأفلاتوكسينات.

وأظهرت نتائج عديدٍ من الدراسات أن الحيوانات الصغيرة أكثر حساسيةً لهذه السموم بالمقارنة بالحيوانات الكبيرة من نفس النوع. فعلى سبيل المثال تأثرت العجول الصغيرة بسموم الأفلاتوكسينات بدرجةٍ أكبر من تأثر الأبقار البالغة، كما أظهرت بعض أنواع حيوانات المزرعة حساسيةً بالغةً لهذه السموم أكثر من غيرها؛ مثال ذلك صغار البط -عمر يوم- التى كانت أكثرها حساسيةً للأفلاتوكسين؛ بعكس الأغنام التى أبدت تحملاً ملحوظاً لتلوث علفها بالأفلاتوكسينات.

كما يلعب نوع العلف المقدم للحيوان دوراً بارزاً فى تسممه بسموم الأفلاتوكسينات؛ فالحيوانات التى تتغذى على علفٍ فقيرٍ فى البروتين تكون أكثر حساسيةً للتوكسين، بالمقارنة بالحيوانات التى تتناول علفاً متوازناً من العناصر الغذائية المختلفة.

وتختلف ردود الأفعال المختلفة لحيوانات التجارب تبعاً لنوع الحيوان؛ فعادةً مايحدث تسمم مزمن **chronic poisoning**؛ نتيجة هضم كمياتٍ بسيطةٍ من هذه السموم، ولمدةٍ طويلةٍ من الوقت.

وتتميز أعراض التسمم المزمن بفقدان الشهية فى المراحل الأولى منه، ثم يقل نمو الحيوان مع تضخم الكبد. وقد ينزف جزء من الكبد أو تتضخم بعض أجزائه. كما يؤثر

التسمم المزمن أيضاً على الجهاز المناعى للجسم الذى تنخفض فاعليته.

وقبل أن يموت الحيوان بأيامٍ قليلةٍ، يصاب بحالةٍ من الاكتئاب والانقباض، ثم يصاب بدوّار ويترنح أثناء سيره، وبعد ذلك تزداد هذه الحيوانات فى عصبيتها، وتصاب بتشنجاتٍ وتقلصاتٍ عضليةٍ لا إراديةٍ وغير سويةٍ.

وفى تجارب أخرى، أُعطيت حيواناتُ التجارب جرعةً كبيرةً واحدةً من الأفلاتوكسين خلال مدةٍ وجيزةٍ لاتتعدى أسبوعاً. ولقد ماتت هذه الحيوانات خلال المدة السابقة؛ نتيجة تأثر كبدها –بشدة– بهذا التسمم الحاد **acute poisoning**، كما أثبتت الدراسات أن باقى أجهزة الجسم الأخرى –مثل الكلى والطحال والرئة– قد تأثرت هى الأخرى بهذا التسمم.

وبالإضافة إلى ماسبق، هناك تغيرات أخرى تحدث فى الحيوان الذى تغذى على علفٍ ملوثٍ بسموم الأفلاتوكسين، وكانت هذه التغيرات على مستوى الخلية والجزيئات؛ مما أدي إلي حدوث طفراتٍ وسرطانٍ عقب هضم الحيوان لهذا العلف الملوث. ولقد تناولت عديد من هذه الأبحاث دراسة سموم أفلاتوكسين ب١(AFB_1) ؛ نظراً لشدة سميتها وانتشارها في الطبيعة عن غيرها من أنواع الأفلاتوكسينات الأخرى.

فلقد أظهرت النتائج أن هضم الحيوان لهذا التوكسين (AFB_1) الملوث للعلف المقدم إليه يؤدى إلى تحوله حيوياً إلى عديدٍ من نواتج التمثيل الغذائى عن طريق السيتوكرومات **P-450**؛ وهى مجموعة من العوامل المؤكسدة المختلطة الموجودة فى الكبد والرئة والقولون. ويوضح شكل (١٤٧) التحولات الحيوية للأفلاتوكسين B_1 وتأثيراتها.

وتعتبر هذه المواد الناتجة من التمثيل الغذائى للأفلاتوكسين ب١(AFB_1) أقل سميةً منه، كما يتخلص منها الجسم عن طريق البول؛ نظراً لكونها مركباتٍ يسهل ذوبانها فى الماء؛ وبناءً على ذلك، يعتبر تحول هذه المركبات السامة حيوياً فى الجسم

من العوامل الهامة التى تعمل على إزالة سميتها، ثم التخلص منها عن طريق الإخراج.

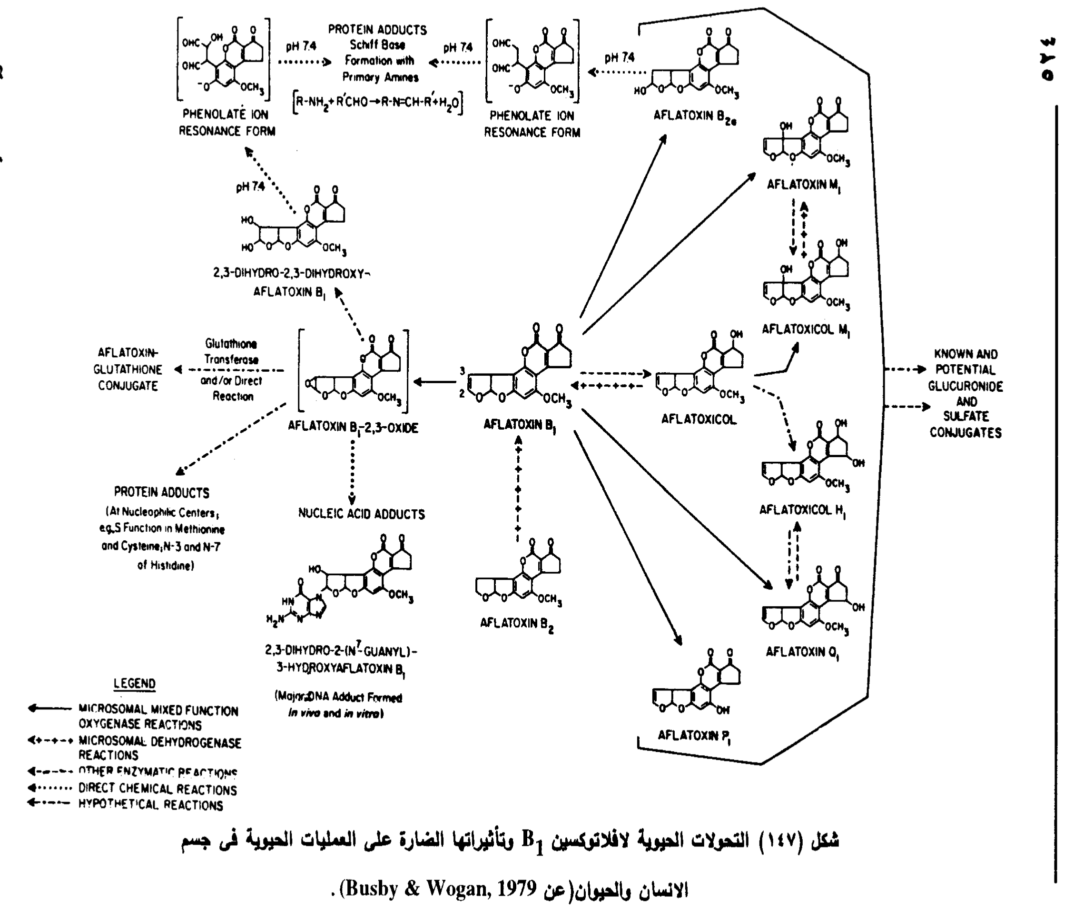
إلا أن هناك بعض المركبات الناتجة من التمثيل الغذائى للأفلاتوكسين ب١ تكون أكثر سمية منه؛ مثال ذلك AFB_1 - 8,9-oxide، والذى ينتج عن طريق أكسدة الأفلاتوكسين ب١ ؛ مما يؤدى إلى زيادة سميته.

وبمجرد أن يتكون مركب AFB_1 - 8,9-oxide فإنه يرتبط برابطة تساهمية مع قاعدة الجوانين guanine فى الحمض النووى DNA. وقد تعمل آلية إصلاح الحمض النووى DNA على إصلاح العطب الناتج من هذا الارتباط، ولكن إذا بقى الارتباط التساهمى السابق دون إصلاح، فإن ذلك يؤدى إلى تلف النسخ، وإحداث طفرة.

وهناك ارتباط معنوى بين مثل هذه الطفرات التى تحدث فى منطقة محدودة، ينتج عنها تحويل قاعدة الجوانين إلى قاعدة ثيمين فى جزىء الحمض النووى عند النسخ؛ مما يؤدى إلى حدوث مرض السرطان.

وفى دراسة حديثة أجريت فى الصين، شوهدت تورمات الكبد فى الإنسان فى المناطق الجغرافية التى يزيد فيها معدل تلوث الأغذية بسموم الأفلاتوكسين ب١ (AFB_1).

كما أوضحت هذه الدراسة إمكانية تثبيط الفعل السام لهذا التوكسين؛ وذلك عن طريق تخليق جميع أنواع الحمض النووى RNA (الريبوسومى والمراسلة والرسول)؛ حيث وجد أن المنطقة من الحمض النووى DNA –والتى تعمل كصرح لتخليق الحمض النووى RNA الريبوسومى– تكون مرتبطة بصفة خاصة بالأفلاتوكسين ب١ النشط؛ وهذا يؤدى إلى تثبيط تخليق ذلك الحمض النووى الريبوسومى، ومن ثم وقف تخليق البروتين.



شكل (١٤٧) التحولات الحيوية لافلاتوكسين B_1 وتأثيراتها الضارة على العمليات الحيوية فى جسم الانسان والحيوان(عن Busby & Wogan, 1979).

سابعاً: التحولات الستيرويدية الفطرية:

أظهر Hench وغيره من الباحثين مع بداية عام ١٩٤٩ أن مادة corticosteroids cortisone وهورمون adrenocorticotrophic hormone (ACTH) يمكن أن تفيد فى معالجة مرض التهاب المفاصل الروماتيزمى الحاد (الروماتويد) severe rheumatoid arthritis .

وتعتبر الستيرويدات steroids مجموعةً من المركبات العضوية التى تحتوى على نواة بيرهيدرو فينانثرين perhydrophenanthrene nucleus، وتظهر هذه المركبات نشاطاً حيوياً هاماً.

وحيث إن الستيرويدات تختلف فيما بينها من حيث تأثيرها الفسيولوجى، فإنه من الأهمية بمكانٍ أن تغير هذه المركبات من صفاتها الكيميائية؛ وذلك عن طريق تغيير التركيب الجزيئى بغرض إنتاج عديد من المركبات ذات الخواص المتباينة؛ وعلي ذلك فإنه يمكن تخليق نواة الستيرويد، وكذلك إنتاج جميع المركبات التجارية التي يمكن الحصول عليها من مصادرها الطبيعية.

ومن أهم المشاكل التى واجهت الكيميائيين الأوائل كيفية إضافة مجموعة الهيدروكسيل إلي ذرة الكربون رقم ١١، وأيضاً إضافتها لذرتى الكربون رقم ١٧ و ٢١. ولقد تم ذلك –أولاً– عن طريق إضافة الأكسوجين إلى مركب البروجيستيرون progesterone فى أحد عشر موقعاً عن طريق الفطر *Rhizopus arrhizus*. ولقد كان الناتج قليلاً، إلا أنه عند استعمال نوعٍ آخر من الفطر السابق (*R.nigricans*) وصل الإنتاج إلى حوالى ٨٥–٩٥٪ من مركب 11-α -hydroxyprogesterone.

وهناك مدى عريض من الأحياء الدقيقة يمكنها تحويل الستيرولات، إلا أن الفطريات تلعب دوراً هاماً متميزاً فى هذا المجال؛ كما هو واضح فى جدول (٣٠).

جدول (٢٩) : أمثلة لبعض الفطريات المستخدمة تجارياً فى التحولات الحيوية.

(عن Wainwright, 1992)

أنواع الفطريات	نوع التحول
Rhizopus nigricans *Curvularia lunata* *Fusarium solani* *Aspergillus ochraceus*	**Steroids الستيرولات** Progesterone ⟶ 11α - hydroxyprogesterone Compound S ⟶ Cortisol Progesterone ⟶ 1.4 androstadiene 3,17 - dione Progesterone ⟶ 11α - hydroxyprogesterone
Penicillium chrysogenum *Cephalosporium sp.* *Emericellopsis minima* *Trichophyton mentagraphytes* *Fusarium avenaceum* *F. conglutinans* *F. semitectum* *Pleurotus ostreatus*	**Antibiotics المضادات الحيوية** بنسلين ف Penicillin V Phenoxymethyl penicillin ⟶ 6 - amino penicil-lanic acid (6- APA)

جدول (٣٠) بعض ظروف الإنتاج المستخدمة فى التحولات الحيوية للستيرويدات. (عن Crueger & Cruger 1990)

ظروف الانتاج	اسم الفطر	المنتج	مادة التفاعل
٧٢ ساعة /٢٥°م	*Cylindrocarpon radiocola*	1- Dehydrotestololactone	**Progesterone**
٩٦ ساعة/ ٢٥°م	*Fusarium solani*	1.4- Androstadiene- 3,17- dione	**Progesterone**
١٢٠ ساعة / ٢٨°م	*Aspergillus ochraceus*	11- α- Hydroxy- progesterone	**Progesterone**
٩٦ ساعة/ ٢٨°م	*Rhizapus arrhizus*	11-α- Hydroxy- 4- androstene- 3,17- dione	**4- Androstene- 3,17- dione**

ومن الناحية التطبيقية، فإن معظم التحولات الحيوية الهامة للستيرولات التى تقوم بها الفطريات تعتمد على تخليق هرمونات الأدرينوكورتيكال **adrenocortical hormones** واضافة مجموعة الهيدروكسيل إلى ذرات الكربون فى الوضع ١١ و ١٧ و ٢١.

ويمكن للفطريات أن تقوم بتحولاتٍ لمختلف أنواع الستيرولات، بما فيها عملية الهدرجة **hydrogenation**، ونزع الهيدروجين **dehydrogenation** ، وإضافة مجموعة الهيدروكسيل **hydroxylation**، بالإضافة إلى الأكسدة لتكوين روابط إيبوكسى **epoxidation**، ونزع السلسلة الجانبية **side-chain cleavage**، بالإضافه إلى تحولٍ غير معتادٍ يتم خلاله تمدد الحلقة الخماسية لنواة الستيرويد **the five-membered ring of the steroid nucleus**؛ حيث تتحول إلى حلقةٍ سداسيةٍ **six-membered ring**.

ومن أمثلة عمليات التحول (جدول٣١) مايلى:

١ـ اختزال الرابطة المزدوجة فى الوضع ٤–٥ و ١٦–١٧ ، واختزال مجموعة الكيتون؛ حيث يتم ذلك عن طريق الفطر ***Epicoccum oryzae***.

٢ـ نزع مجموعة الهيدروجين **dehydrogenation** فى الستيرولات من الوضع ١، ٢؛ حيث يتم ذلك عن طريق الفطر ***Fusarium solani***.

٣– إضافة مجموعة الهيدروكسيل؛ حيث يعتبر ذلك أهم تفاعلات تحول الستيرولات. ولقد سبقت الإشارة إلى أن هذا التفاعل يتم فى الوضع ١١ و ١٧، وبالإضافة إلى ذلك فإنه من الممكن أن يتم فى الأوضاع ٦، ٧، ٨، ٩، ١٠، ١٤، ١٥، ١٦.

وفى بعض الحالات يمكن أن تحدث إضافة مجموعة الهيدروكسيل فى أكثر من موقعٍ؛ مثال ذلك إضافة الهيدروكسيل الى البروجستيرون **progesterone** فى الوضع ٦ و ١١ بواسطة الفطر ***Rhizopus arrhizus***.

٤ـ تفاعل الأكسدة لتكوين روابط إيبوكسى **epoxidation** الذى يمكن حدوثه فى

الستيرويدات المحتوية على رابطةٍ زوجيةٍ منعزلةٍ **isolated double bond**؛ وذلك بواسطة الفطر ***Curvularia lunata***.

٥- انشقاق السلاسل الجانبية الثنائية الكربون من الستيرولات المحتوية على ٢١ ذرة كربونٍ **C-21 steroids** وذلك عن طريق أنواعٍ مختلفةٍ من الفطريات؛ مثل ***Aspergillus flavus***، و ***Penicillium lilacinum***.

٦- وفى النهاية، فإن أكثر هذه التحولات -التى من غير المعتاد حدوثها- تمدد حلقة الستيرويد الخماسية **five-membered steroid ring** إلى سداسيةٍ **six-membered ring**. ومن أمثلة ذلك تمدد المركب **17-α-hydroxysterone** بواسطة الفطر ***Aspergillus niger***.

جدول (٣١) : أمثلة لبعض التحولات الحيوية المستخدم فيها الفطريات.

نوع التفاعل	اسم الفطر	مثال
Hydroxylation إضافة مجموعة هيدروكسيل	***Aspergillus clavatus*** ***Mucor spinosus*** ***Aspergillus ochraceus*** ***Rhizopus nigricans*** ***Aspergillus flavus*** ***Cunninghamella elegans***	Tryptophan → 5-Hydroxy-tryptophan
Epoxidation أكسدة لتكوين روابط ايبوكسى	***Rhizopus nigricans*** ***Cunninghamella elegans***	1,7-Octadiene → 7,8-Epoxy-1-octene
Dehydration of -CH-CH- نزع الهيدروجين	***Fusarium solani***	Glaucine → (Fusarium solani) → Didehydro-glaucine

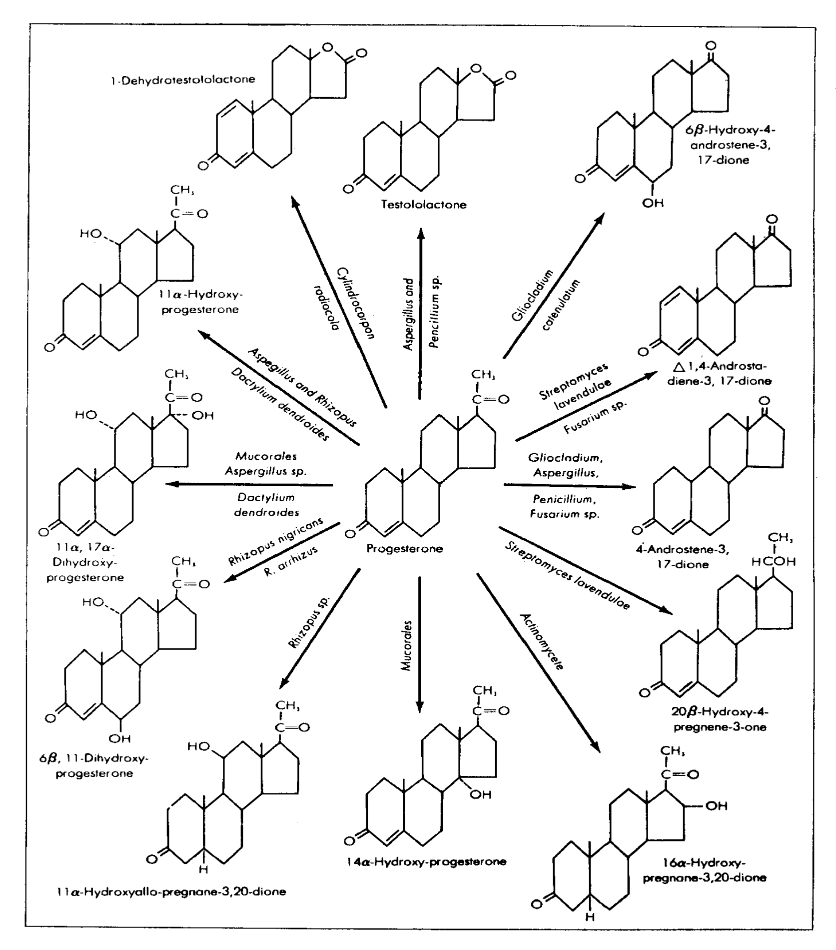
أكسدة السلسلة الأليفاتية الجانبية وتكوين الألدهيدات أو الكيتونات أو مجاميع الكربوكسيل	*Candida albicans*	Phenyl-acetic acid
أكسدة لتكسير مجاميع الاكيل الجانبية	*Candida albicans* *Fusarium solani* *Rhizopus arrhizus* *Rhizopus nigricans*	2-Hydroxy-phenyl acetic acid Phenyl acetic acid
أكسدة لفصل بعض المجاميع مثل مجاميع الميثيل أو الامين	*Cunninghammella blackesleana*	10,11-Dimethoxy-aporphine → Isoapocodeine
اختزال مجاميع الكربوكسيل	*Sacchoromyces cerevisiae* *Kloeckera magna* *Pichia farinosa*	
إضافة الأيدروجين للروابط الزوجية بين ذرات الكربون	*Aspergillus flavus* *Penicillium decumbens*	α,β-unsaturated carboxylic acids
تكوين الجليكوزيدات	*Rhizopus sp.* *Aspergillus niger*	Methylglucopyranoside derivative



شكل (١٤٨) : الفطر *Penicillium lilacinum*. رأس كونيدى يحمل قارورات تخرج منها كونيديات فردية.

وفى عام ١٩٦٢، حصل الباحث «Knight» على مركب ١١- ألفاهيدروكسيل 11-α-hydroxyl، الذى اشتق من البروجيستيرون progesterone؛ وذلك باستعمال كونيديات الفطر *Aspergillus ochraceus*، بينما يتم حالياً تحولات الستيرولات باستخدام الجراثيم الفطرية أكثر من استخدام الميسليوم الفطرى. ويوضح شكل (١٤٩) بعض تحولات البروجسترون بواسطة الكائنات الحية الدقيقة.

ويتم تحول الستيرويد عن طريق إنماء الفطر فى بيئة فقيرة فى محتواها الغذائى؛ مما يقلل من المشاكل الناتجة عن الإفرازات الفطرية. وفى نهاية مرحلة النمو الفطرى، أو بعد إضافة الجراثيم مباشرةً، يضاف الستيرويد المراد تحويله؛ وذلك بعد إذابته فى قليلٍ من محلول الإذابة الخالى من مصدر نيتروجينى.



شكل (١٤٩) بعض تحولات البروجسترون بواسطة الكائنات الحية الدقيقة.

ونظراً للسمية النسبية العالية للمذيب المستخدم، فإنه عادةً مايضاف بنسبة ٠,٥–٢ جرام لكل لترٍ من السترويد المراد تحويله. وتستغرق هذه المرحلة حوالى ٢٠–٤٠ ساعةً، ثم يستخلص –بعد ذلك– السترويد الجديد الذى تم تحويله؛ وذلك بواسطة مذيباتٍ غير قابلةٍ للامتزاج مع الماء **water-immiscible solvents**؛ مثل الكلوروفورم.

وهناك طريقة أخرى بديلة، يتم فيها إنماء الفطر لتكوين كتلةٍ حيويةٍ كبيرةٍ من النموات الفطرية، ثم تضاف هذه الكتلة الحيوية **biomass** إلى الستيرويد المراد تحويله. وتؤدى هذه الطريقة إلى إنتاج كميةٍ كبيرةٍ من الستيرويد المتحول.

وفى النهاية، يمكن تحويل الستيرويدات باستعمال الخلايا أو الإنزيمات المسكنة على أعمدة جيل البولى أكريلاميد **polyacrylamide gel columns**، والتى فيها يُستعمل إنزيم مناسب أو فطر؛ مثل ***Curvularia lunata***. ويتم إمرار محلول الستيرويد من أعلى العمود؛ حيث يمر خلال الجيل ويتم تحويله إلى الستيرويد المرغوب، ويجمع المحلول الناتج بعد مروره خلال العمود.

ثامناً: التحولات الحيوية للمركبات الأخرى الفعالة علاجيًا:

لقد أدى النجاح فى استخدام الفطريات لتحويل الستيرولات إلى معاملة مماثلة لمركبات أخرى فعالة علاجيًا **pharmacologically active compounds**؛ مثال ذلك المواد المضادة للتورمات الموجودة طبيعيًا؛ مثل مادة الأكرونين **acronine**، وكذلك قلويدات الفينكا **Vinca alkaloids** التى أمكن تحويلها كيميائيًا –باستخدام بعض الأنواع التابعة للفطر ***Aspergillus***– إلى مشتقات أقل سمية، ولكنها مازالت محتفظة بفاعليتها.

ومن ناحية أخرى أمكن تحويل مادة اللوكانثون **lucanthone** – وهى مادة قاتلة لديدان البلهارسيا **schistosomicidal agent**– إلى صور أخري عديدة فعالة؛ وذلك عن طريق الفطر ***Aspergillus sclerotiorum***.

ويعتبر استخدام الفطريات فى تحويل مثل هذه المركبات الفعالة ذا أهمية اقتصادية عالية؛ وذلك للحصول على مركبات متخصصة من الصعب الحصول عليها، سواء كيميائيًا، أم من مصادرها الطبيعية.

تاسعاً: الاستخدامات الطبية للإنزيمات الفطرية:

تعتبر الفطريات منتجاتٍ هامةً للإنزيمات؛ وذلك على نطاقٍ صناعيٍّ، ولهذه الإنزيمات الفطرية تطبيقات طبية عديدة؛ فعلى سبيل المثال تستعمل إنزيمات الأميلاز المقاومة للأحماض **acid-resistant amylases** المنتجة بواسطة الفطر ***Aspergillus oryzae***، وإنزيمات السيليولاز **cellulases** المنتجة بواسطة الفطر ***Trichoderma viride***؛ وذلك بغرض هضم المواد العضوية، بينما تستخدم الإنزيمات الفطرية المحللة للبروتين **fungal proteases** فى علاج عسر الهضم.

وكذلك الحال فى الإنزيمات الفطرية المحللة للدهون **fungal lipases** المنتجة بواسطة الفطر ***Aspergillus oryzae***، وفطر الخميرة ***Candida lipolytica***؛ والتى تستعمل لتعويض نقص إفراز الإنزيمات المحللة للدهون من البنكرياس فى الإنسان.

ومن الأمثلة الأخرى للإنزيمات الفطرية المستخدمة فى الصناعات الغذائية، إضافة الإنزيم المحلل لسكر اللبن (اللاكتوز) المفرز من الفطريات **fungal lactase** إلى منتجات الألبان؛ وذلك لخفض رد الفعل الناتج من الحساسية المفرطة للأكتوز؛ وهى حالة تحدث -عادةً- فى بعض دول العالم.

وفى هذه الحالة يلاحظ أن الأطفال لايتحملون -عادةً- اللبن؛ وذلك ناتج من نقص إنزيم **ß-galactosidase**. وعند إضافة الإنزيم الفطرى المحلل لهذا السكر إلى اللبن، يمكن حل هذه المشكلة؛ حيث يتم التحليل المائى لسكر اللاكتوز فى معدة الأطفال، ثم يمتص، بدلاً من تخمره إلى غازاتٍ تسبب هذه المشكلة.

وتستعمل الإنزيمات الفطرية -أيضاً- فى معالجة الجلطات الدموية **blood clots**،

ولخفض نسبة تسوس الأسنان. وتعتمد فاعلية الإنزيمات الفطرية فى تقليل تسوس الأسنان على الحقيقة التى تقول إنه قبل أن تتحلل الأسنان، تبدأ الديسكترينات البكتيرية **bacterial dextrins** فى الترسيب على سطح الأسنان. ويمكن –نظريًا– تثبيط هذه المواد عن الترسيب؛ وذلك عن طريق الإنزيمات الفطرية المحللة لها التى تفرزها بعض الفطريات؛ مثل الفطر ***Penicillium fumiculosum***.

وفى النهاية، يستعمل إنزيم أكسدة أملاح اليورات **urate oxidase**؛ الذى ينتجه الفطر ***Aspergillus flavus*** فى علاج مرض النقرس **gout**؛ حيث إن هذا الإنزيم يساعد على منع تكوين بلورات حمض اليوريك.

عاشراً: القيمة الطبية للفطريات الراقية:

انحصر معظم اهتمام العالم ـ حتى نهاية القرن العشرين ـ بقدرة الفطريات الهيفية **filamentous fungi** فى إنتاج المركبات ذات الأهمية الطبية **medically important compounds**، وخاصة المضادات الحيوية، بينما كان الاهتمام بالقيمة الطبية للفطريات الراقية ـ خاصة فطريات عيش الغراب ـ محدوداً.

ولقد نالت بعض فطريات عيش الغراب شهرةً محليةً فى بعض دول العالم ذات الحضارة القديمة، وخاصة فى دول شرق آسيا؛ مثال ذلك فطر عيش غراب المايتاكى **maitake mushroom** (أنواع من الجنس ***Grifola***) وفطر عيش غراب الثقوب (أنواع تابعة للجنس ***Polyporus***).

والأنواع السابقة من فطريات عيش الغراب الطبية تتبع عائلة فطريات عيش الغراب الثقبية **Polyporaceae**، والتى تعرف باسم الفطريات الرفية **bracket fungi**؛ والتى تضم أنواعاً من الفطريات المفيدة طبياً؛ مثل الفطر ***Grifola frondosus***، و ***G.umbellata***، و ***G.gigantea***.

ويمتاز فطر عيش غراب المايتاكى بعديدٍ من المميزات؛ مما يجعله عظيم القيمة الطبية؛ فعلى سبيل المثال يحتوى هذا الفطر على مادةٍ مخفضةٍ لضغط الدم **hypoten-sive substance** تعمل أيضاً على خفض مستوى الكولسترول فى الدم؛ وذلك على فئران التجارب، ولكن هذه النتائج الطبية المشجعة تبشر بإمكانية استخدامه مع الإنسان فى المستقبل القريب.

وينتج الفطر ***Grifola confluens*** المضاد الحيوى جريفولين **grifolin**، بالإضافة إلى مدى عريضٍ من مختلف المواد المضادة للتورمات **antitumour agents**؛ حيث يتم

الحصول عليها باستخلاص الأجسام الثمرية للفطر، وأيضًا من البيئة السائلة التى ينمو عليها الميسليوم الفطرى للأنواع المختلفة التابعة لهذا الجنس.

والمادة الفعالة فى هذا الفطر عبارة عن جلوكانات **glucans**؛ وهى واحدة من المكونات الرئيسية للجدر الخلوية الفطرية. ويبدو أن هذه المركبات تعمل على حث المقاومة فى جسم الإنسان ضد تكوين التورمات من خلال تشجيع تكوين الإنترفيرون **interferon**؛ مما يؤدى إلى قتل خلايا التورمات فى أماكن تواجدها.

ويمكن استخلاص الجلوكانات المضادة للتورمات **antitumour glucans** من الأجسام الثمرية لفطريات عيش الغراب التابعة للجنس ***Grifola***، وكذلك من ميسليوم الفطر وأجسامه الحجرية؛ وذلك باستخدام الماء وكربونات الصوديوم وهيدروكسيد الصوديوم.

ولقد منحت براءة الاختراع فى اليابان لبعض العقاقير الطبية المحتوية على جلوكانات الفطر ***Grifola***؛ مثال ذلك **Nippon Beet Sugar** الذى يعرف باسم (**GF-1**). ويتميز هذا العقار بتثبيط نشاط الجسم فى تكوين الأورام؛ حيث اختبر على فئران التجارب المصابة بعدوى «سرطان النسيج الضام **sarcoma-180**».

ومن ناحية أخرى أمكن إنتاج سكرياتٍ طبية معقدة **medical polysaccharides** ومواد تزيد من قوام الأغذية **food thickeners** من الهيفات والأجسام الثمرية الجافة لفطر عيش الغراب ***Grifola frondosus***.

حادى عشر: بعض الاستخدامات الطبية المتنوعة للفطريات:

تستعمل بعض الفطريات الهيفية -مثل بعض الأنواع التابعة للجنس *Aspergillus*- وبعض أنواع الخمائر فى إنتاج الليفانات **levans**؛ التى تستخدم -بعد تحليلها مائيًا وتنقيتها- فى إنتاج مادة بديلة لبلازما الدم. وتستخدم هيفات بعض الفطريات فى عمل ضمادات لعلاج الجروح والإسراع بشفائها؛ حيث يتم ذلك عن طريق إنتاج مادة ليفية **fibrous material** من ميسليوم الفطر ***Mucor mucedo*** أو الفطر ***Rhizomucor miehei***. ويعامل الميسليوم الفطرى بالكحول؛ لإظهار المكونات الأساسية للجدر الخلوية من الشيتين والشيتوسان. ويراعى عند استعمال هذه الضمادات الهيفية الفطرية على الجروح أن تكون رطبة؛ مما يعجل بشفاء الجرح.

ويمكن استعمال فطريات الخمائر فى إنتاج كميات محدودة من مادة **selenomethionine**؛ وهو مركب يصعب تخليقه؛ حيث يستعمل فى المسح الإشعاعى **radioisotope scanning** للبنكرياس. ويتم إنتاج هذه المادة بإنماء فطر خميرة الخباز **baker's yeast** على بيئة قليلة فى محتواها من الكبريت؛ حيث يضاف إليها $H_2{}^{75}SeO_3$، ثم تترك عملية التخمر لمدة ٢٤ ساعة، وبعد ذلك تحلل خلايا الخميرة مائيًا للحصول على مادة **Selenomethionine**.

وتظهر بعض المواد الناتجة من التمثيل الغذائى للفطريات نشاطًا ملحوظًا فى النواحى الصيدلية **pharmacological activity** على حيوانات التجارب. ومعظم هذه المركبات ذات استخدامات طبية؛ فعلى سبيل المثال لاحظ **Mc Nutt** عام ١٩٢٨ أن إناث الخنازير التى تتغذى على علف ملوث بفطريات العفن -مثل بعض الأنواع التابعة للجنسين ***Fusarium*** و ***Gibberella***- تعرضت لتشوه فى نموها؛ حيث تضخمت الغدد الثديية **mammary glands**، وحدث هبوط للمهبل والمستقيم عن موضعيهما

الطبيعيين. ولقد أثبتت هذه الدراسة أن المادة الفعالة عبارة عن مادةٍ أوستروجينيةٍ oes-trogenic material.

ولقد شوهد مثل هذا التأثير الراجع إلى الأوستروجين oestrogenic response فى بعض حالات التسمم الفطرى بالتوكسين زيرالينون zearalenone.

ومن ناحيةٍ أخرى، أثبتت نتائج الأبحاث أن للمضاد الحيوى باتيولين patulin –والذى ينتج بوفرةٍ بواسطة عديدٍ من الفطريات الهيفية، وخاصة الفطر *Penicillium patulum*– فاعليةً مضادةً للتقلصات antispasmodic activity، كما يمكنه إيقاف انقباضات القولون contraction of colon.

وهناك مضاد حيوى آخر، وهو الجريسيوفولفين griseofulvin –الذى ينتجه الفطر *P.griseofulvum*– وهو ذو تأثير مضاد للالتهابات anti-inflammatory effect؛ حيث يستخدم فى إسعاف المرضى الذين يعانون الذبحة الصدرية pectoris.

ومن الأمثلة الأخرى للاستخدامات الطبية للمواد المنتجة من الفطريات، مادة سلافرامين slaframine المنتجة بواسطة الفطر *Rhizoctonia leguminicola*، والتى تسبب زيادة إفراز اللعاب فى الماشية، وهى فعالة فى تنشيط البنكرياس، والغدد الخارجية الإفراز exocrine glands.



الباب الحادي عشر

بعض الاستخدامات الصناعية الحديثة للفطريات



بعض الاستخدامات الصناعية الحديثة للفطريات

يزداد استخدام الفطريات فى النواحى الصناعية يوماً بعد يومٍ؛ حيث تتفتح مجالات شتى للاستفادة من هذه الفطريات بعيداً عن تلك الاستخدامات التقليدية المعروفة فى التخمرات المتنوعة.

ومما لاشك فيه أن صناعة التخمرات هى أكبر وأهم التقنيات الحيوية التى تستخدم فيها أنواع متباينة من الفطريات فى النواحى الاقتصادية، ومع ذلك فإنه لوحظ -فى الآونة الأخيرة- زيادة اهتمام الباحثين والعاملين فى مجال الفطريات للبحث عن استخداماتٍ حديثةٍ ومبتكرةٍ للفطريات فى النواحى الصناعية.

وعلى الرغم من هذا السباق العلمى العالمى، فإن كثيراً من الأبحاث الجيدة مازالت حبيسة المعامل، وبعضها مازال فى طور التجارب، ولم يصل بعد إلى مرحلة التطبيق التجارى على نطاقٍ واسعٍ. إلا أن المستقبل القريب -ونحن على مشارف القرن الحادى والعشرين- يحمل لنا عديداً من الاستخدامات المفيدة للفطريات فى شتى نواحى الحياة.

١- استخدام فطريات العفن الأبيض فى صناعة الورق:

يُنتج النبات كمياتٍ هائلةً من السيليلوز والخشب كل عامٍ، يتراكم بعضها دون استخدامٍ مسبباً مشاكل بيئيةً متنوعةً، على الرغم من أن هذه المواد الليجنوسيليلوزية ذات قيمةٍ عاليةٍ كمصدرٍ للطاقة، وكمادةٍ خامٍ لعديدٍ من الصناعات المفيدة.

ويتركب الخشب من ثلاثة مكوناتٍ رئيسية؛ هى: اللجنين، والسيليلوز، والهيميسيليلوز. وقد يتحد السيليلوز واللجنين فيكونان مواد لجنوسيليلوزية معقدةً صعبة التحلل. ويعتبر السيليلوز معقداً من الجلوكوز المرتبط بروابط B1و4، كما يعتبر الهيميسيليلوز معقداً من مختلف السكريات الخماسية والسداسية مثل الزيلانات xy- lans والمانانات mannans، بينما يعتبر اللجنين مركباً شديد التعقيد من فنيل بروبان phenyl propane بالإضافة إلى عديد من الكحولات (شكل١٥٠). وتحتوى المواد النباتية على نسبٍ مختلفةٍ من السيليلوز والهيميسيليلوز واللجنين.

شكل (١٥٠) نموذج لتركيب اللجنين.

ولعل مشكلتنا مع هذه الكميات الهائلة من المواد النباتية المتراكمة فى الطبيعة هى كيفية الاستفادة منها بطريقةٍ اقتصاديةٍ؛ وهنا تظهر الفطريات كأحد الحلول المثالية النموذجية.

فعندما تنمو الفطريات على مثل هذه المواد النباتية، فإنها تحلل السيليلوز والهيميسيليلوز إلى جلوكوزٍ وسكرياتٍ أخرى، يسهل استخدامها فى عديدٍ من التخمرات الصناعية؛ لإنتاج مواد أخرى ذات قيمةٍ اقتصاديةٍ عاليةٍ، وأيضاً يمكن إنتاج مواد تصلح كعلفٍ للحيوانات.

ولقد نجح الإنسان فى الاستفادة من الفطريات المحللة للخشب، وأنتج منها بروتيناً ميكروبياً **single cell protein**، أمكن استخدامه كغذاءٍ بروتينيٍّ، وخاصةً فى الدول التى تعانى نقص البروتين فى غذائها؛ مثال ذلك: زراعة فطريات عيش الغراب. وكذلك أمكن إنتاج أحماضٍ عضويةٍ ذات قيمةٍ صناعيةٍ عاليةٍ، وكحولاتٍ استخدمت كوقودٍ حيويٍّ فى كثيرٍ من دول العالم.

ويعتبر الزيلوز هو السكر الرئيسى الناتج عن تحليل الهيميسيليلوز؛ وهو يستخدم حالياً كسكرٍ خماسيٍّ تنمو عليه بعض فطريات الخميرة، وتحوله إلى وقودٍ حيوى **biofuel**. وكذلك الحال فى الزيلوز الذى يمكن تحويله إلى كحول إيثانول بفعل بعض الفطريات الهيفية؛ مثل الفطر ***Fusarium oxysporum***.

ومازالت بعض الدراسات تجرى فى جامعة التقنية الحديثة بفنلندا؛ بغرض الاستفادة من السكريات الخماسية -كالزيلوز- فى إنتاج حمض الأيتاكونيك **itaconic acid** عن طريق الفطر ***Aspergillus terreus***.

كما أوضحت الأبحاث قدرة بعض الفطريات على تحليل الفينولات من خلال قدرتها العالية على الأكسدة؛ فعلى سبيل المثال يتميز الفطر ***Phanerochaete chry-sosporium*** بقدرته على إفراز إنزيم **lignin peroxidase** المؤكسد لللجنين. وهناك عديد من الفطريات التى تفرز نفس الإنزيم؛ مثل: ***Phlebia radiata***، و ***Coriolus versicol-or***، وأيضاً فطر عيش الغراب المحارى ***Pleurotus ostreatus***.

إلا أن بعض المواد الليجنوسيليلوزية تكون مقاومةً لفعل إنزيمات الفطر المحللة؛ حيث تلعب درجة تبلور السيليلوز الداخل فى تركيب هذه المواد دوراً كبيراً فى مقاومته لفعل الإنزيم الفطرى، وكذلك درجة تلاصق ألياف السيليلوز بعضها مع بعضٍ، وكمية اللجنين المحيط بهذه الألياف السيليلوزية.

ولقد وقف ذلك حائلاً دون استخدام الفطريات المفرزة لمثل هذه الإنزيمات المحللة استخداماً صناعياً. إلا أن اتّباع بعض الطرق الطبيعية والكيميائية ساعد كثيراً على تعديل الصفات التركيبية لهذه المركبات الليجنوسيليلوزية الصعبة التحلل.

ومن أكثر الطرق شيوعاً فى هذا المجال التعرض للبخار **steam explosion process** والذى يتم فيه ذلك تحت ظروف ضغطٍ وحرارةٍ مرتفعة، وكذلك استخدام أحماضٍ عضويةٍ؛ مثل حمضى الكبريتيك والفوسفوريك، وأيضاً استخدام الصودا الكاوية، ومركب إيثيلين ثنائى الأمين **ethylendiamine**، و بيوتيل أمين **n.butylamine**.

ويعتبر ماسبق مدخلنا الحقيقى للاستفادة من الفطريات فى إحدى الصناعات الهامة وهى صناعة الورق. وفى هذه الصناعة يتم تجهيز عجينة الورق بالطرق الكيميائية؛ حيث يتم –خلال ذلك– فصل الخشب إلى أليافه السيليلوزية عن طريق إذابة اللجنين. وفى هذه المرحلة يتم تكوين عجينة الورق (لباب الخشب **wood pulp**)؛ وهى المادة الخام المستخدمة فى صناعة الورق.

وخلال مرحلة صناعة عجينة الورق **kraft process**، يتم غلى الخشب فى محلولٍ من كبريتيد الصوديوم **sodium sulphide** وهيدروكسيد الصوديوم **sodium hydrox-ide**؛ حيث تتم خلال ذلك إذابة معظم اللجنين، إلا أنه ينتج من هذه المعاملة مادة تتميز بلونها البنى الداكن. وتتم إزالة هذا اللون بواسطة التبييض الكيمائى **chemical bleaching**؛ وذلك باستعمال الكلور **chlorine**.

ويعقب المعاملة السابقة بالكلور **chlorination** الاستخلاصى القلوى **alkaline ex-traction**؛ الذى يعمل على إزالة معظم اللجنين المتبقى من عجينة الورق -un

bleached kraft pulp. ويلاحظ –عادة– أن بعض الكلور المتبقى فى العجينة الورقية يرتبط باللجنين مكوناً مركباتٍ عضويةً كلورينيةً **chlorinated organic compounds**؛ تسبب تلوثاً للبيئة عند التخلص منها وتسربها إلى مياه الأنهار.

ولتجنب مثل هذه المشاكل البيئية، يمكن استخدام الأكسوجين بديلاً عن مادة الكلور كعاملٍ للتبييض **bleaching agent** فى مراحل إنتاج عجينة الورق، إلا أن الكلور مازال يستخدم فى مصانع كثيرةٍ فى أنحاء العالم، على الرغم من وجود البديل الحيوى، وهى الفطريات.

فعلى سبيل المثال، يمكن استخدام فطر عفن الأخشاب **wood-rotting fungus** ***Trametes (Coriolus) versicolor*** فى صناعة عجينة الخشب، دون الحاجة إلى معاملة العجينة الناتجة بالكلور؛ حيث تنتج عجينة ناصعة البياض.

ولقد لوحظ أن العجينة الورقية الناتجة من الخشب الرخو **soft wood pulps** تكون أكثر صعوبةً فى تبييضها من العجينة الورقية الناتجة من الخشب الصلد **hardwood pulps**، إلا أن هذه العجائن الورقية يمكن تبييضها حيوياً باستعمال الفطريات. وعند استعمال الفطر ***T.versicolor*** يمكن التخلص من حوالى ثلثى اللجنين المتبقى فى العجينة الورقية.

ولتحسين إنتاج العجائن الورقية باستعمال الفطريات، يمكن استعمال مستحضراتٍ من الفطريات المحللة للخشب **wood-decomposing fungi**؛ مثال ذلك الفطر ***Tra-metes versicolor***، والفطر ***Phanerochaete chrysosporium*** على صورة نموات فطرية محملة على مواد رغوية معقدةٍ **polyurethane foam**. ولعل الفائدة التى تعود على صناعة الورق من هذه التقنية الحديثة هى إمكانية فصل الفطر من عجينة الورق بعد إتمام التفاعل، وبالتالى عدم وجود هيفاتٍ فطريةٍ تلوث عجينة الورق المعاملة حيوياً.

ويعيب الطريقة السابقة –برغم مميزاتها العديدة– احتياج التبييض الحيوى الفطرى

fungal biobleaching إلى وقتٍ طويلٍ نسبياً. وقد تلعب الأبحاث العلمية الجارية -لتحسين إنتاج العجائن الورقية باستخدام التقنية الحيوية للفطريات- دوراً معنوياً في اختصار الوقت اللازم لإنهاء عملية التبييض الحيوى.

ويمكن استخدام الفطريات فى صناعة الورق فى إحدى مراحلها المبكرة؛ والتى يطلق عليها اسم «صناعة عجينة الورق بطريقةٍ ميكانيكيةٍ حيويةٍ biomechanical pulping»؛ حيث يتم ذلك عن طريق المعاملة الحيوية الأولية biological pretreat- ment للقطع الخشبية المبشورة بفطر العفن الأبيض؛ حيث تؤدى هذه المعاملة إلى توفير الطاقة اللازمة لتفكيك الأليافِ عن بعضها، كما تحسن من جودة الألياف الناتجة. وتعتبر الطريقة الحيوية أقل تلوثاً للبيئة بالمقارنة بالطريقة الكيميائية -الطبيعية المستخدمة عادة.

ويجب أن تكون أنواع الفطريات المستخدمة فى صناعة لباب الورق قادرةً على تحليل اللجنين، فى حين أن قدرتها على تحليل السيليلوز محدودةً للغاية؛ حيث إن السيليلوز هو المكون الأساسى لصناعة الورق. وعادةً مايتم عزل السلالات الفطرية الناتجة من طفرات غير منتجةٍ للإنزيم المحلل للسيليلوز cellulase- less mutants؛ حيث يمكن بذلك التغلب على مشكلة نشاط الإنزيم المحلل للسيليلوز، على الرغم من الحقيقة القائلة بأن مثل هذه الطفرات تُظهر انخفاضاً فى نشاطها فى تحليل اللجنين.

وعلى أية حالٍ، أمكن التوصل إلى عزل طفراتٍ لفطرياتٍ محللة للجنين وغير محللةٍ للسيليوز. كما أمكن التغلب على مشكلة العزلات الفطرية المحللة لكلٍ من السيليلوز واللجنين بطريقةٍ بديلةٍ؛ وهى إضافة الجلوكوز إلى مبشور الخشب wood chips المستخدم فى صناعة لُباب الورق (العجينة الورقية) خلال مراحل التصنيع الأولى؛ حيث تؤدى هذه المعاملة إلى تثبيط نشاط الإنزيمات الفطرية المحللة للسيليلوز.

ويمكن استخدام بعض فطريات العفن الأبيض؛ مثل فطر عيش غراب الشيتاكى *Lentinus edodus* لخفض محتوى الخشب المستخدم من اللجنين، دون الإضرار بمحتواه من السيليلوز. وليس من الضرورى إزالة اللجنين تماماً من الخشب؛ حيث

إن إزالة جزءٍ منه تكفى لتسهيل تحويل الخشب إلى عجينةٍ بالطرق الميكانيكية المألوفة. وتؤدى مثل هذه المعاملة إلى توفير الطاقة المستهلكة فى هذه المرحلة، كما تحسن من جودة الورق الناتج.

ولقد أمكن تحليل اللجنين تحليلاً جزئيًا دون خسارةٍ فى السيليلوز؛ وذلك باستعمال عزلاتٍ من طفراتٍ لاتحتوى على الإنزيم المحلل للسيليلوز **cellulase-less mutants** من فطر عيش الغراب الرفى ***Polyporus adustus***. ولقد أمكن توفير كثير من الطاقة اللازمة لصناعة العجينة الورقية؛ وذلك بمعاملة مبشور الخشب بالفطر السابق لمدة خمسة عشر يومًا على الأقل.

ومن ناحيةٍ أخرى أمكن استعمال طفرةٍ غير مفرزةٍ للإنزيم المحلل للسيليلوز، تتميز بتحملها للحرارة العالية من الفطر ***Sporotrichum pulverulentum***؛ مما أدى إلى خفضٍ معنويٍ فى الطاقة المستهلكة اللازمة لصناعة العجينة الورقية ميكانيكيًا. وتحتاج هذه المعاملة إلى حوالى عشرة أيامٍ، موفرةً حوالى ٣٠٪ من الطاقة المطلوبة.

ويتم الحصول على مثل هذه الطفرات الفطرية غير المفرزة للإنزيمات المحللة للسيليلوز؛ وذلك عن طريق تعريض معلقٍ جرثوميٍ من الفطر للأشعة فوق البنفسجية؛ حتى يتبقى من هذه الجراثيم حوالى ٢٪ فقط محتفظةً بحيويتها، بينما تموت بقية الجراثيم، وبعد ذلك يتم إنماء هذه الجراثيم الحية على بيئةٍ معتمة تحتوى على السيليلوز الخام **opaque cellulose-containing medium** وذلك لمدة أسبوعين.

وفى نهاية فترة النمو السابقة، تتكون هالات رائقة حول المستعمرات الفطرية للفطريات المحللة للسيليلوز، بينما لاتتكون مثل هذه الهالات حول المستعمرات الفطرية الأخرى غير المحللة له؛ والتى يتم نقلها على بيئةٍ غذائيةٍ أخري، ويحتفظ بها كطفراتٍ لعزلاتٍ فطريةٍ غير محللةٍ للسيليلوز **cellulase-less mutant**.

٢- إسالة الفحم **coal solubilisation**:

هناك عديد من الوسائل الكيموحرارية التى يمكن استخدامها فى تحويل الفحم الحجرى إلى أنواعٍ من المنتجات السائلة والغازية، إلا أن مثل هذه التقنيات تحتاج إلى

حرارةٍ عاليةٍ، بالإضافة إلى ضغطٍ مرتفعٍ قد يكون مكلفاً مقارنة بالأسعار الحالية لمنتجات البترول، ومن الصعب تنفيذه.

ولقد كانت هناك محاولات عديدة خلال ستينيات هذا القرن، تهدف إلى استخدام الأحياء الدقيقة لإسالة الفحم فى درجات الحرارة العادية والضغط العادى، دون تكاليف إضافية. واعتمدت هذه المحاولات على أن الفحم -وخاصةً تلك الأنواع الرديئة منه- يتشابه فى تركيبه مع اللجنين؛ ومن ثم فإن الفطريات المحللة للخشب سوف تكون - أيضاً - محللةً للفحم بنفس الطريقة وبدرجاتٍ متفاوتةٍ.

ومن الناحية الواقعية، فإن الفطريات فعالة فى إسالة أنواع الفحم الرديئة، أو تلك التى تعرضت للعوامل الجوية لمدةٍ طويلة، وكذلك التى تمت أكسدتها؛ مثال ذلك الليوناردديت leonardite؛ وهو فحم ليجنيت lignit تَعَرَّضَ لعوامل جويةٍ قاسيةٍ.

وتُظهر الفطريات طريقتين لإسالة الفحم، الأولى تشمل شطر روابط الكربون-الكربون إنزيمياً، بينما تعتمد الثانية على إنتاج مركباتٍ قلويةٍ alkaline substances.

وهناك مدى واسع من الفطريات التى يمكنها إسالة الفحم؛ حيث تعتبر أنواع فطريات العفن الأبيض المحللة للجنين white rot lignin-decomposing fungal species من أكثر الفطريات فى قدرتها على تحليل الفحم المنخفض الجودة low-grade coals؛ والذى يتميز بتركيبه المشابه لتركيب لجنين الخشب.

ويزداد حالياً استخدام هذه المجموعة من الفطريات فى شتى نواحى التقنيات الحيوية؛ فعلى سبيل المثال تنتج فطريات العفن الأبيض إنزيمات ligninases و laccases، هذه الإنزيمات تستعمل فوق أكسيد الهيدروجين hydrogen peroxide أو الأكسوجين -على الترتيب- وذلك للانشطار التأكسدى oxidative cleavage لروابط كربون-كربون فى السلاسل المستقيمة aliphatic chains؛ وذلك عند ارتباطها بنواةٍ حلقيةٍ aromatic nucleus.

ويمكن للفطريات إسالة كتل الفحم عند نموها على سطحه، وأيضاً عند نموها

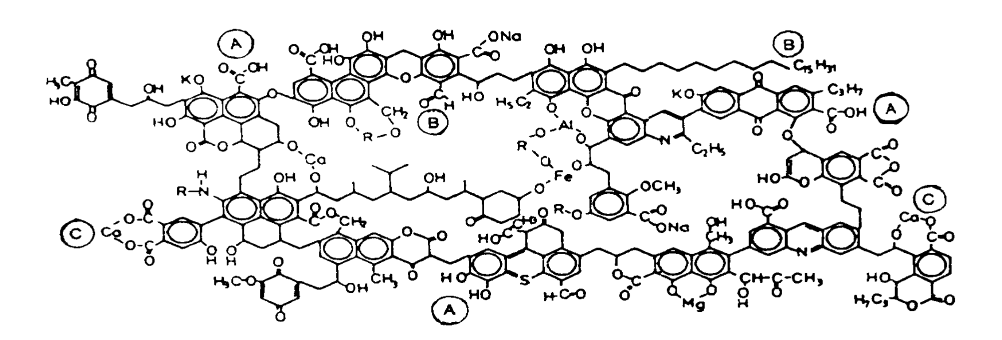
على مسحوق الفحم فى البيئة السائلة submerged culture، وكذلك عند نموها فى مفاعل الطبقة الهائمة fluidised bed reactor.

ولقد وجد Cohen & Gabriele (1982) أن فطر عيش الغراب الرفى *Polyporus versicolor* ينمو على بيئة آجار الليجنيت lignite agar medium، وأيضاً على مسحوق فحم الليجنيت. وينتج عن نمو أنواع فطريات العفن الأبيض -وغيرها من الفطريات المحللة للفحم- على سطوح كتل الفحم قطيرات زيتية صغيرة سوداء اللون (لوحة ملونه رقم ١٥). وعند اختبار هذه القطيرات بطيف الأشعة تحت الحمراء in-frared spectrums، وجد أنها تختلف باختلاف نوع الفطر المستخدم فى التحليل؛ مما يدل على أن الفطريات تستخدم تفاعلاتٍ إنزيمية مختلفةً enzyme pathways خلال إسالتها للفحم.

ولقد وُجدَ أن تأثير الفطر *Phanerochaete chrysosporium* على تحويل الفحم إلى الصورة السائلة يمكن تلخيصه فيما يلى (شكل١٥١):-

* إنتاج مركباتٍ قلوية -مثل الأمينات- تؤدى إلى معادلة التأثير الحامضى للفحم البنى المحول إلى الصورة السائلة.
* تعمل إنزيمات الأكسدة المنتجة بواسطة الفطر السابق -مثل إنزيم peroxidase، وإنزيم laccase- على زيادة توزيع الأكسوجين داخل الهيكل الكربونى؛ مما يؤدى إلى زيادة معدل إذابته، وتحويله إلى الصورة السائلة.
* تؤثر إنزيمات الفطر على المركبات المخلبية الموجودة فى الفحم، والتى ترتبط ببعض المعادن المشاركة فى تركيب الفحم.
* تعمل إنزيمات estrases المنتجة بواسطة الفطر على تكسير المواد المشابهة للشموع، والتى تدخل فى تركيب الفحم.
* تؤثر المركبات التنزيدية tensides -والتى ينتجها هذا الفطر- على المواد التى تعطى الفحم الصفة الكارهة للماء hydrophobe؛ وبالتالى يتحول الفحم إلى مادةٍ قابلةٍ للإسالة والاختلاط فى الماء.

ويمكن لفطر عيش الغراب الرفى *Polyporus versicolor* استعمال فحم اللجنيت الخام الصلب **raw solid lignite**، أو المستخلصات القلوية **alkaline extracts** كمصدرٍ وحيدٍ للتغذية. ويبدو أن المركبات القلوية العضوية القابلة للذوبان **alkaline soluble organic compounds** تحتجز داخل التركيب البنائى المسامى لفحم الليجنيت؛ مما يدعم النمو الفطرى على هذا الفحم (شكل١٥١)؛ ولذلك فإن تأثير النمو الفطرى يكون ناتجاً من إنزيماتٍ خارجيةٍ يفرزها الفطر داخل مسام الفحم.



شكل (١٥١) : آلية اسالة الفحم بواسطة الفطريات.

A : المركبات القلوية. B : إنزيمات الأكسدة. C : المواد المخلبية.

ولقد فشلت بعض المحاولات التى أجريت بغرض إنماء الفطريات على فحم الليجنيت بمفرده، وربما قد يرجع ذلك إلى غياب بعض البقايا العضوية القابلة للاستفادة بواسطة هذه الفطريات. ولقد تم إثبات ذلك؛ حيث إن حجم الجزء القابل للذوبان فى القلوى **alkaline-soluble portion** من الفحم يتناسب مباشرةً مع الجزء الذى تمت أكسدته وتم تعرضه للعوامل البيئية.

وتتم عملية الإسالة الكاملة للفحم فى حوالى أسبوع؛ وذلك تحت الظروف المثالية، منتجةً مواد سائلةً تختلف فى لونها من الرائق العديم اللون إلى الأسود، محتويةً على خليطٍ معقدٍ من المواد المذابة القطبية الأولية primary polar solutes. هذه المواد المذابة عبارة عن مركباتٍ عضويةٍ ذات وزنٍ جزيئيٍّ متوسطٍ أو كبيرٍ، وذات رائحةٍ عطريةٍ.

ويمكن استخدام المواد الناتجة عن إسالة الفحم كمادةٍ أوليةٍ تدخل فى مختلف الصناعات الكيميائية، ويمكن تعديلها بواسطة إنماء بعض الأحياء الدقيقة عليها؛ حيث تستخدم بعد ذلك كوقودٍ غازيٍّ أو كوقودٍ سائل بديلٍ لمنتجات البترول.

وهناك طريقتان للتطبيقات العملية لمثل هذه الفطريات المسّيلة للفحم.

الطريقة الأولى: هى استخدام نظام المفاعل ذى الوسادة الثابتة **fixed bed reactor system**، وفيه ينمو الفطر على وسادة ثابتة من الفحم **stationary bed of coal** تكون معرضةً للهواء الرطب خلال مرحلة نمو الفطر. وينساب الناتج السائل إلى قاع المفاعل، ثم يجمع بعد ذلك.

الطريقة الثانية: يستعمل فيها المفاعل ذو الطبقة الهائمة **fluidised bed reactor**؛ وذلك عن طريق عمل معلقٍ من جزئيات فحم صغيرة الحجم فى تيارٍ مائيٍّ يتدفق من أعلى إلى أسفل **upflowing aqueous stream** يحتوى على الفطر والعناصر الغذائية اللازمة لنموه.

ويتم إمداد الفطر بالهواء؛ وذلك عن طريق دفعه من قاع المفاعل، بينما تتم إزالة المواد الصلبة؛ وذلك للحصول على المحلول الناتج لمزيدٍ من التعديلات التى يمكن أن تجرى عليه.

الأكسدة الأولية للفحم لزيادة إسالته:

أوضحت الدراسات السابقة أن وجود الفحم فى صورةٍ مؤكسدةٍ يجعله فى حالةٍ يسهل إسالتها؛ فعلى سبيل المثال فإن أسطح قطع الفحم التى سبق تعرضها للعوامل الجوية يسهل إسالتها بالمقارنة بقطع الفحم الأخرى البعيدة عن تلك العوامل الجوية. هذه المشاهدات توضح أن قطع الفحم التى تمت أكسدتها بشدةٍ highly oxidised coals تسيل بسهولة.

وبناءً على ماسبق، فليس من العجيب أن نجد أن المعاملة الكيميائية المؤكسدة بدرجةٍ معتدلة mild oxidative chemical treatment تعمل على الإسراع من درجة الإسالة بدرجةٍ كبيرةٍ عن طريق الفطريات وغيرها من الأحياء الدقيقة؛ فعلى سبيل المثال، فإن المعاملة بمحلول فوق أكسيد الهيدروجين hydrogen peroxide أو بحمض النيتريك nitric acid على درجة حرارة الغرفة لمدة حوالى ٤٨ ساعةً تحسن بدرجةٍ كبيرةٍ من معدل إسالة الفحم بواسطة الفطريات.

ومن ناحيةٍ أخرى، وجد أن استعمال مزرعةٍ مختلطةٍ من عديدٍ من الأحياء الدقيقة –ومنها الفطريات بطبيعة الحال– تزيد من معدل إسالة الفحم بالمقارنة باستعمال الفطريات منفردة. كما أوضحت عديد من الدراسات الأخرى أن بعض الفطريات غير المحللة للخشب –مثل بعض الأنواع التابعة للجنسين *Penicillium*، و *Paecilomyces*– تظهر بعض القدرة على تحليل فحم اللجنيت lignite؛ وذلك تحت ظروف التهوية الجيدة.

ويبدو أن النظام السابق يتضمن إنتاج عاملٍ مساعدٍ قلويٍّ فطريٍّ متخصصٍ specific fungal alkaline catalyst، بينما توضح الدراسات الحديثة أن الإنزيمات المتداخلة –عادةً– فى إسالة الفحم يكون مصدرها هو فطريات العفن الأبيض. وقد تكون العوامل غير العضوية المؤثرة على إسالة الفحم (inorganic coal soubilising agents (CSA مسئولة أيضاً عن إسالة الفحم ضمن هذا النظام.

وعند عزل تلك العوامل غير العضوية CSA المتداخلة فى إسالة الفحم بواسطة الفطر ***Trametes versicolor***، وجد أنها متطابقةً مع مادة أوكسالات الأمونيوم؛ لذا يبدو أن إنتاج أنيون الأوكسالات **oxalate anion** –فضلاً على الإنزيم– يوضح لنا بجلاءٍ لماذا يمكن لهذا الفطر إسالة الفحم المنخفض الجودة بفاعليةٍ عالية.

٣ - تحول المركبات اللجنوسيليلوزية إلى غازات:

يمكن للفطريات أن تستخدم ـ أيضاً ـ فى تحليل المركبات الليجنوسيليلوزية –التى تتوافر بكثرةٍ فى المواد النباتية– إلى غازات، بالإضافة إلى نواتج أخرى سائلةٍ. ويتم هذا التحول تحت ظروفٍ لاهوائية؛ وذلك عن طريق إضافة الفطريات المحللة للسيليلوز إلى المواد النباتية، ثم تحضينها بعد ذلك فى مفاعلات **reactors** على حرارة ٣٠°م.

ويمكن لبعض الأنواع الفطرية التابعة للجنسين ***Curvularia*** و ***Penicillium*** تحويل المادة النباتية إلى غاز الميثان، وإلى مواد هيدروكربونية، وثانى أكسيد الكربون؛ حيث يمكن استعمال هذه النواتج كوقودٍ غازيٍّ.

٤ - استعمال الخمائر فى إزالة البارافينات والشموع:

طُورت الوسائل التقليدية المتبعة فى صناعة البترول؛ وذلك؛ بغرض إزالة البارافينات من المواد الهيدروكربونية **deparaffinate hydrocarbons**، وفى نفس الوقت إنتاج كتلة حيوية من النموات الفطرية غنية بالبروتين **protein-rich biomass** عظيمة الفائدة، يمكن استخدامها فى عديدٍ من النواحى التطبيقية.

ولقد استعملت نواتج فصل زيت البترول **petroleum fractions** ـ بما فيها الكيروسين والديزل وزيوت تشحيم المحركات ـ كمواد خام لإنماء فطرى الخميرة ***Candida lipolytica*** و ***Saccharomyces cerevisiae***، وغيرها من أنواع الخميرة الأخرى.

وعند إنماء هذه الفطريات على المواد السابقة، أمكن إزالة الهيدروكاربونات ذات السلاسل المستقيمة **straight-chain hydrocarbons** فقط؛ مما سبب انخفاضاً فى

نقطة الإنصهار melting point لنواتج فصل البترول، حيث إن ذلك يتيح لنواتج الفصل ذات درجة الغليان المرتفعة high-boiling petroleum fractions استعمالها كوقود ديزل، وأيضاً كزيوت تشحيم وسوائل أخرى متحولة.

ومن المعروف أن الطائرات النفاثة التى تطير على ارتفاعاتٍ شاهقةٍ تواجه درجات حرارة بالغة الانخفاض؛ وهذا يتطلب استعمال نوعٍ من الوقود يتميز بنقطة غليانٍ تقل عن خمس درجاتٍ مئوية. ويمكن إنتاج مثل هذا الوقود باستعمال فطريات الخميرة لإزالة المركبات البارافينية، ويصبح المنتج عبارةً من كيروسين لابرافينى deparaffinate kerosene، يتم تقطيره عند حرارة تتراوح بين ١٧٠م-٢٠٠م.

إن عملية إزالة البارافينات باستعمال الخميرة yeast deparaffination تتضمن تنمية سلالةٍ متأقلمةٍ على التمثيل الغذائى للهيدروكاربونات فى بيئةٍ سائلةٍ تحتوى على نواتج تقطير بارافينية paraffinic distillate وذلك تحت ظروف تهوية جيدة. وفى نهاية فترة نمو هذه الخميرة يتكون مستحلب من خلايا الخميرة والهيدروكاربونات التى لم يتم تمثيلها غذائياً فى صورةٍ سائلة. ويتم فصل هذا المستحلب عن طريق الطرد المركزى فى وجود مادة نشطةٍ سطحياً surface-active agent؛ حيث تزال عجينة الخميرة (الكتلة الحيوية) بعد ذلك بواسطة مصفاة، ثم يتم غسيلها للتخلص من باقى المركبات الهيدروكربونية.

وكذلك الحال عند تكرير الزيوت النباتية المستخلصة من بعض الخضراوات vegeta-ble oils؛ حيث يمثل استخلاص الشموع waxes مشكلةً خطيرةً، ونتيجة لذلك فإن بعض هذه الزيوت المفيدة لم يمكن حتى الآن استغلالها تجارياً.

وعلى الرغم من المشاكل التى سبقت الإشارة إليها، فإنه يمكن إزالة الشموع البارافينية paraffinic waxes وخليط الأسترات للكحولات العديدة الهيدروكسيل est-ers of higher polyhydric alcohols مع الأحماض الدهنية عن الزيوت بواسطة إضافة الخميرة.

وفى هذه الخطوة تضاف خميرة الخباز ***Saccharomyces cerevisiae*** مع سكر قابلٍ للتخمر **fermentable sugar** إلى الزيت المعدنى أو النباتى، ثم يرج المخلوط جيداً، ثم يضاف إنزيم البيبسين **pepsin** قبل نهاية مرحلة التقليب **agitation step**، وبعد ذلك يصفى المخلوط، ويفصل الزيت الخالى من الشمع **the wax-free oil** عن طريق نقل المخلوط من وعاءٍ إلى آخر **decanting**.

٥- دور الفطريات في التقنية الحيوية للمعادن:

تستعمل الأحياء الدقيقة -وخاصةً البكتيريا الذاتية التغذية الكيميائية **chemoauto-trophic bacteria**- على نطاقٍ واسعٍ فى تقنيات المعادن **mineral technologies** فى الأونة الأخيرة؛ فعلى سبيل المثال تستعمل بعض الأنواع التابعة لأجناس البكتيريا ***Thi-obacillus*** و ***Sulfolobus*** فى الحصول على المعادن من خاماتها؛ حيث تنمو هذه البكتيريا فى غياب مصدر الكربون العضوى؛ وذلك باستعمال ثانى أكسيد الكربون بدلاً منه.

وعلى عكس ماسبق، نجد أن الأحياء الدقيقة غير الذاتية التغذية (العضوية التغذية) **heterotrophic microorganisms** -بما فيها الفطريات- يجب إمدادها بمصدرٍ كربونيٍّ عضويٍّ حتى يمكنها النمو؛ لذلك فإن مثل هذه الأحياء الدقيقة تكون أقل فاعليةً فى تحول العناصر، وتستخدم بدرجةٍ محدودةٍ فى التقنية الحيوية للمعادن **mineral biotechnology**.

وعلى الرغم من ذلك، فهناك قليل من الأمثلة لفطرياتٍ تستعمل بنجاحٍ كعوامل تآكلٍ حيويةٍ للمعادن **bioleaching agents**؛ مثال ذلك إمكانية استخدام الفطريات والبكتيريا غير الذاتية التغذية لاستخلاص الحديد من خاماته الغنية؛ مثل: الجوثيت **goethite**، والليمونيت **limonite**، والهيماتيت **haematite**؛ وهى من أكاسيد الحديد المائية. ومعظم الأنواع الفطرية التى اختبرت كانت تابعةً للجنسين ***Aspergillus*** و ***Penicillium***.

ولإتمام عملية استخلاص الحديد، يجب أن يكون رقم حموضة البيئة المستعملة أقل من ٣؛ وذلك لمنع إعادة الأكسدة الكيميائية لأيون الحديدوز المتحرر. ويبدو أن عملية الإستخلاص ترجع إلى تكوين الفطر لحمض الأوكساليك oxalic acid، وحمض الستريك citric acid. ويمكن زيادة معدلات الإستخلاص؛ وذلك بإضافة مصدرٍ كربونيٍّ؛ عادةً مايكون فى صورة مولاس molasses، أو مخلفاتٍ عضويةٍ غنيةٍ فى الكربون.

وباتباع ذلك الأسلوب، يمكن إزالة الحديد من الرمال المحتوية على حوالى ٠,١٪ حديداً، وكذلك من صلصال الكاؤلين kaolins الذى يحتوى على ١٪ من الحديد وبذلك يصبح الرمل المعامل مناسباً لاستخدامه فى صناعة زجاجٍ عالى الجودة.

ويعمل استخلاص الحديد من الكاؤلين على تحسين صفاته؛ مما يجعله أكثر مناسبةً لتصنيع خزفٍ عالى الجودة ناصع البياض. وأيضاً تؤدى مثل هذه المعاملة إلى إنتاج طين معامل حيوىّ bioleached clays، يتميز بمقاومته للنار fire-resistant، وثابت حرارياً حتى حرارة ١٦٧٠°م–١٧٥٠°م؛ مما يجعله مناسباً لصناعة المواد المقاومة للحرارة fireproof materials.

ولقد وجدت كميات كبيرة من سليكات الألومنيوم aluminosilicates فى أمريكا الشمالية وفى أوروبا.. وبعض هذه المواد المترسبة تحتوى على كمياتٍ مناسبةٍ من الألومنيوم تجعل عملية استخلاصها ذات قيمةٍ اقتصاديةٍ عاليةٍ. ونتيجة لذلك، درست بعض الشركات العاملة فى مجال التقنية الحيوية biotechnological companies إمكانية استخدام الأحياء الدقيقة فى استخلاص الألومنيوم من خام سليكات الألومنيوم.

ولقد وجد أن عديداً من الفطريات قادرة على هدم النظام البلورى crystal lattices لسيليكات الألومنيوم، مما يؤدى إلى تحرر الألومنيوم. ومن أنشط هذه الفطريات: *Aspergillus niger*، و *Scopulariopsis brevicaulis*، و *Penicillium expansum*.

وترتبط قدرة هذه الفطريات على هدم سليكات الألومنيوم بإنتاجها من الأحماض أو

القلويات، والتى تهاجم الصخور المحتوية على هذه المادة عن طريق التحليل الكيمائى.

ومن ناحية أخرى، يمكن لهذه الفطريات أن تكوّن مركبات معقدةً **complexing agents**، وبواسطة طرق غير معلومة لنا حتى الآن، تؤدى إلى استخلاص المعدن المرغوب. ويطلق على هذا الأسلوب «التحليل المعقد **complexolysis**».

ويمكن للأنواع الفطرية التابعة للجنس ***Penicillium*** إذابة حوالى ٧٠٪ من النيكل **nickel** الموجود فى خام اللاتيريت المحتوى على السليكات **silicate-bearing laterite ore**؛ وذلك عن طريق إنتاج الفطر لحمض الستريك من الجلوكوز المضاف.

ويحتوى الرماد المتطاير الناتج كأحد مخلفات محطات الطاقة على كميات ضخمة من الألومنيوم، والتى يمكن استخلاصها عن طريق استخدام الأحياء الدقيقة، وذلك باتباع نفس التقنية الحيوية التى سبقت الإشارة إليها؛ وهى إنتاجها لحمض الستريك. ويمكن للفطر المستخدم –مثل ***Aspergillus niger***– إنتاج حمض الستريك فى مكان وجوده ***in situ***؛ وبذلك يمكن استخدام مثل هذه الفطريات بصورة اقتصادية، وذلك بإنمائها على المخلفات الملوثة للبيئة، مما يحد من خطورة هذه المخلفات على صحة الإنسان والأحياء الأخرى من حولنا.

وتتأثر قيمة خام الحديد بوجود الفوسفات بتركيزات أعلى من ٠,٣٪. ولقد استخدمت بعض الأنواع الفطرية التابعة للجنس ***Penicillium*** –والتى يمكنها النمو على الجلوكوز– فى إذابة الفوسفات غير الذائبة –مثل هيدروكسى أبتيت **hydroxyapatite**– من المادة الخام. ولقد أدى ذلك إلى الحصول على مركب على درجة عالية من النقاء؛ مقارنةً بالمنتج الذى يمكن الحصول عليه باستعمال الأحماض المعدنية. وهناك حالات أخرى يتم فيها استعمال الفطر ***Aspergillus niger*** لإذابة الألومنيوم والمانجنيز من خاماته الأكسيدية.

وفى دراسة حديثة (Wenzi et al,1990) أمكن استعمال فطريات الخميرة لاستخلاص الزنك والنحاس والرصاص من غبار المرشحات filter dusts؛ حيث وجد أن هذا الغبار الناتج عن مراحل إنتاج النحاس يحتوى على ٥,٨٪ زنكاً و ١١,٣٪ رصاصاً، و ٦,١٪ قصديراً، و ٠,١٪ نحاساً، بالإضافة إلى كميات مختلفة من عناصر أخرى؛ مثل: الكبريت، والحديد، والنيكل، والزرنيخ، والأنتيمون.

ولقد عُزلت إحدى وعشرون سلالةً من فطريات الخمائر من بيئات مختلفة، ووجد أن عزلتين فقط منهما أمكنهما استخلاص أكثر من ٥٪ زنكاً؛ وذلك عند إضافة المادة فى اليوم الأول من فترة التحضين. بينما عند إضافة المادة بعد ثلاثة أيام من التحضين أمكن لثمانى عزلاتٍ من فطريات الخميرة السابقة إذابة نفس كمية الزنك؛ حيث يرجع ذلك إلى تكوين كتلةٍ حيويةٍ كبيرةٍ من الفطر المستخدم.

وفى نفس التجربة السابقة، أمكن التوصل إلى أعلى إذابةٍ (٦٥٪) من الزنك؛ باستعمال خميرة ***Brettanomyces lambicus*** فى وجود تركيزٍ عالٍ من الجلوكوز. ولقد وجد أن العوامل الفطرية المفرزة **the fungal leaching agents** المسئولة عن إذابة الزنك عبارة عن أحماضٍ عضويةٍ -مثل حمض اللاكتيك والستريك- بالإضافة إلى عوامل أخرى غير محددةٍ، قد تكون عبارةً عن خليطٍ من الأحماض الأمينية.

ومن ناحية أخرى، وجد أن أكسدة خام الكبريتيد **sulphide ore** بواسطة البكتيريا الذاتية التغذية الكيميائية **chemolithotrophic bacteria** من العمليات التى يمكن الاعتماد عليها فى التقنية الحيوية لاستخلاص العناصر **leaching biotechnology**. كما أن بعض الأحياء الدقيقة الأخرى غير الذاتية التغذية -كالفطريات- يمكنها القيام بذلك.

فعلى سبيل المثال، يمكن معاملة خامات الكبريتيد بجراثيم فطريات الخميرة والسكروز فى وعاء إذابة **leaching tank** يحتوى على ٢٦٪ نحاساً، و ٣٠٪ زنكاً

(وزن/حجم)؛ حيث تتم أكسدة السلفيد بعد حوالى ٢٤ ساعة. ويحتوى محلول الإذابة **leaching solution** على حوالى ١٠ جرامات من النحاس و ٧ جرامات زنك لكل لتر.

ويمكن لبعض الفطريات الهيفية **filamentous fungi** أكسدة الكبريتيدات المعدنية **metal sulphides**، إلا أن كمية ضئيلة من المعدن تذاب فى المحلول؛ وبذلك لايمكن مقارنة هذه الفطريات الهيفية بالخمائر من ناحية كفاءتها فى الإذابة؛ مما يجعل استخدام الفطريات فى التقنية الحيوية للإذابة **leaching biotechnology** محدوداً، اللهم إلا فى حالة تراكم المعدن فى الكتلة الحيوية **biomass** للنموات الفطرية؛ والذى يمكن استخلاصه منها بعد ذلك.

وأيضاً يمكن للميسليوم الفطرى للفطريات ***Aspergillus ochraceus*** و ***Penicilli-um funiculosum*** امتصاص اليورانيوم **uronium**؛ وذلك عند تحضين الفطر فى كيس ديلزة **dialysis** (كيس يعتمد على ظاهرة الانتشار الغشائى) مغمورٍ فى بيئة جلوكوزٍ بسيطةٍ **simple glucose medium**؛ تحتوى على صخورٍ مصحونةٍ غنيةٍ باليورانيوم **powdered uranium-rich ruck**. ويتم التراكم الحيوى لليورانيوم فى مرحلتى النمو اللوغاريتمى والثابت **exponential and stationary phase**؛ حيث يحتوى الميسليوم الفطرى على هذا المعدن، ويستخلص منه بعد ذلك.

وعند ترك ميسليوم الفطر ***A.ochraceus*** فى أكياس مصنوعة من البولى إيثيلين أو من مادة **polyvinyl chloride**، وغمر هذه الأكياس فى مخلفاتٍ تحتوى على اليورانيوم، يزداد محتوى اليورانيوم فى كلٍّ من الميسليوم الفطرى ومحلول الإذابة **lea-chate**.

ويرتبط عنصر اليورانيوم -بشدةٍ- بالميسليوم الفطرى، ولايمكن إذابته بالماء أو بمحلول كلوريد البوتاسيوم؛ وبالتالى فإنه من الصعب استخدام الفطريات لاستخلاص اليورانيوم من المواد المحتوية عليه.

٦- إنتاج الأنسجة الفطرية الحديثة Novel fungal textiles:

استخدمت المنتجات الميكروبية -فى الآونة الأخيرة؛ كمصدرٍ لصناعة أنواعٍ من الألياف الصناعية synthetic fabrics. ومعظم الأمثلة التى يمكن ذكرها فى هذه التقنية تشمل استعمال مركباتٍ معقدةٍ (بوليمرات polymers)؛ مثال ذلك: البولى هيدروكسى بيوترات polyhdroxybutyrate، والجينات alginate، والسيليلوز cellu-lose من أصل بكتيرى.

شكل (١٥٢): التحول الحيوى للهيدروكربونات لتكوين أليافٍ صناعيةٍ عن طريق الفطريات.

وهناك فريق بحثى يتبع المجموعة البريطانية للنسيج والتقنية British Textile and Technology Group فى مدينة مانشستر، اختبر إمكانية استخدام الفطريات الهيفية لإنتاج الأنسجة. ومن المعروف أن الفطريات تمتلك عدداً من الصفات المميزة تجعل منها مصادر مفيدةً لإنتاج الأنسجة؛ مثال ذلك سرعة وسهولة إنمائها، وقدرتها على إنتاج مواد جديدةٍ من جدرها الخلوية novel cell-wall materials تعتمد على الشيتين chitin، بالإضافة إلى السيليلوز cellulose والكيراتين keratin.

ولقد وجد أن الكتلة الحيوية الفطرية fungal biomass اللازمة لهذا الغرض يجب إنماؤها على مواد غير مكلفة أو مخلفاتٍ عضويةٍ رخيصة الثمن. وبعد نمو الفطر على مثل هذه المواد داخل المفاعل الحيوى bioreactor، يتم ترشيح بيئة النمو من خلال مرشحٍ ذى ثقوبٍ دقيقة fine mesh filter، ثم تغسل النموات الفطرية المحتجزة على المرشح بواسطة الماء؛ وذلك لإزالة بقايا البيئة السابق نمو الفطر عليها.

ويمكن تبييض هذه النموات الفطرية أو معاملتها بمحلولٍ قلوىّ؛ وذلك بغرض إزالة أية بروتيناتٍ غير مرغوبة، ثم يعاد بعد ذلك عمل معلق منها فى الماء. وفى هذه المرحلة يمكن صناعة حشيةٍ من نسيج هيفات الفطر fungal mat، سواء النقية أم المخلوطة بأليافٍ أخرى طبيعية؛ مثل عجينة الخشب، أو ألياف صناعية مثل البولى أستر polyester.

وتميل الألياف الفطرية -عند وجودها بصورةٍ منفردةٍ- إلى التقصف، ولكن عند خلطها بأليافٍ أخرى تتكون مادة تشبه الورق paper-like material. ويمكن جعل الألياف الفطرية أكثر مرونةً flexible وغشائيةً membranous بواسطة عملية التلدين plasticising؛ وذلك بإضافة الجليسرول glycerol.

وهناك نموذج آخر للمواد المبتكرة التى يمكن صناعتها من الخيوط الهيفية الفطرية التى يتم تجميعها وتجفيدها لتكون وسادةً ماصةً absorbent pad. ويمكن مقارنة مثل هذه الوسائد الفطرية بالمواد الأخرى الماصة المستخدمة فى الطب وفى الصحة العامة الشخصية personal hygiene.

ولقد قيمت هذه الوسادات الفطرية على أنها مناشف قابلة للامتصاص absorbent wet wipes، ومواد ممتصة للأيونات المعدنية metal ion absorbents، وضمادات تشفى الجروح wound healing materials، ومرشحات filter materials، وأيضاً جلد صناعى artificial leather.

وتتوقف الاستخدامات التطبيقية لمثل هذه المواد الفطرية -فى الأغراض التى سبقت الإشارة إليها- على انخفاض سعر إنتاجها بدرجةٍ كبيرةٍ. ولعل من أكثر الاستخدامات

الحالية لتلك المواد الفطرية استخدامها كمواد حيوية مدمصة للمعادن metal biosor-bents تستخدم فى إزالة المعادن من المحاليل؛ حيث يتوقف ذلك على وجود الشيتين فى تركيب الجدار الخلوى للهيفات الفطرية.

وبعد نزع مجاميع الإيثيل من الكتلة الحيوية للفطر، ينكشف التركيب الشيتينى للجدر الخلوية؛ حيث يكون –حينئذ– فعالاً فى إزالة أيونات المعادن النفيسة؛ (مثل: الذهب، والفضة) من المحاليل. ويمكن تحقيق ذلك بنجاح عند استعمال طبقات عديدة من المواد الفطرية فى آنٍ واحدٍ، وإن كان ذلك سوف يقلل من معدل تدفق المحلول، ويزيد من الوقت اللازم لذلك. ويمكن التغلب على هذه المشكلة عن طريق تصنيع نسيجٍ رقيقٍ من البولى أستر المعامل بالميسليوم الفطرى.

ولكى تكون لمثل المنتج السابق قيمة اقتصادية، يجب أن يكون استخدامه ممكناً لعدة مراتٍ؛ حيث يمكن ذلك عن طريق غسله –بعد استخدامه– بمحلولٍ مخففٍ من حمض الكبريتيك dilute sulphuric acid؛ والذى يعمل على إزالة الأيونات المعدنية، ولكنه لايؤثر فى قدرة المرشح على ادمصاص المعادن metal adsorption ability.

وهناك محاولات أخرى تجرى لغزل خيوطٍ من الحوامل الجرثومية من بعض الفطريات الهيفية، إلا أن هذه المحاولات لم يكتب لها النجاح حتى الآن، وذلك راجع إلى طبيعة هذه الهيفات الفطرية الهشة السريعة التقصف.

٧– الفطريات.. ومستقبل البشرية:

ماذا تخفى لنا الفطريات من مفاجآت فى المستقبل القريب أو البعيد؟ ربما يكون من الصعب التكهن بذلك ونحن على أعتاب القرن الواحد والعشرين.

ولعلنا لو سألنا أنفسنا نفس السؤال منذ عقودٍ قليلةٍ خلت، ماكنا نتوقع مثل هذا التقدم العلمى فى دراسة الفطريات والاستفادة منها فى شتى نواحى حياتنا، حتى

يمكن القول إن القرن العشرين هو قرن اكتشاف الفطريات ذات الأهمية الصناعية والتى فاقت فى استخدماتها تصور أكثرنا خيالاً.

ويجب ألا نغفل أننا مازلنا نجهل الفطريات، ومانعرفه من أنواع وأجناس لايتعدى فى مجمله ٥,١ ٪ من إجمالى الفطريات الموجودة على كوكبنا، وحتى هذه النسبة الضئيلة من الفطريات لانكاد نعلم عنها إلا القليل، ومازلنا نكتشف قدراتها وإمكاناتها الحيوية التى تظهرها لنا يوماً بعد يوم.

فلقد عمل الإنسان على تلوث البيئة، وأخل بالتوازن بين الأحياء وبعضها، حتى كاد أن يدمر الكوكب الذى يعيش عليه هو وأجياله التالية، ولم يجد من منقذ سوى الفطريات؛ فبعضها يعيد تدوير المخلفات، وينتج طعاماً لبلايين الأفواه الجائعة بعدما عجزت مصادر الغذاء التقليدية عن توفير طعام مغذى لها.

واستخدمت الفطريات أيضاً لإزالة سمية المواد السامة والمبيدات والعناصر الثقيلة التى لوثت الأراضى والمياه الجوفية، وأيضاً لتخفيف حدة خطورة الأمطار الحمضية التى قضت على مساحات شاسعة من الغابات فى أوروبا -مثل الغابة السوداء فى جنوب ألمانيا -وعلى الأسماك ومختلف صور الحياة البرية الأخرى.

وهناك عديد من المشاكل الصحية التى وقف الإنسان عاجزاً أمامها، مثل مرض نقص المناعة الطبيعية للجسم (الإيدز AIDS)، والأورام السرطانية القاتلة، ورفض الجسم لنقل الأعضاء. ولم يحرز الإنسان تقدماً فى مثل هذه الحالات ـ وغيرها ـ إلا عن طريق أنواع من الفطريات، لم نكن نعلم عنها شيئاً منذ عقود قليلة مضت.

لقد غير البنسلين وجه التاريخ، وهيأ الأذهان لاستقبال مزيد من المفاجآت التى تحملها لنا الفطريات يوماً بعد يوم. ومازالت الفطريات تحمل بين جوانحها المزيد الذى تقدمه لنا، حتى نكاد أن نقول أن القرن القادم هو -أيضاً- قرن الفطريات.

فما من صناعة إلا وتعتمد على الفطريات فى جزء منها، صغر أم كبر. ولعلنا نذكر دور هذه الفطريات فى التخمرات الحيوية، والتى يمكن تشبيهها بمصباح علاء الدين،

الذى -من خلاله- أمكننا تخليق عديد من المواد ذات الأهمية البالغة تخليقاً حيوياً، فى وقت كدنا نعتقد أن ذلك ضرب من الخيال.

كما أزالت الفطريات الحواجز بين العلوم وبعضها، فعندما يكتشف عالم الأحياء الدقيقة مضاداً حيوياً جديداً، يسعى عالم الوراثة لإعادة صياغة الحمض النووى الفطرى فيما يسمى بالهندسة الوراثية لكى يحصل على أقصى إنتاج من المضاد الحيوى من سلالة الفطر، ويهتم عالم الكيمياء الحيوية بتركيب المضاد الحيوى، والطبيب بفاعليته، والمهندس بخط الإنتاج التجارى وهكذا.

ولم يقف استخدام الفطريات عند حدود معينة، بل استخدمت لحل مشكلة توفير طاقة منخفضة التكاليف، مثل إنتاج الكحول الصناعى (الجاسوهول **gasohol**) من المخلفات العضوية، والتى سبقت الإشارة إليها، إلا أن هناك المزيد.

فلقد ظهر مايمكن أن يطلق عليه اسم بطارية الخميرة **yeast fuel cell**، والتى تعتمد فى تشغيلها على تحويل طاقة تنفس فطر الخميرة إلى طاقةٍ كهربائيةٍ؛ فمن المعروف أنه خلال التنفس تتولد إليكترونات يمكن إمرارها إلى قطب موجب **anode** لبطارية حيوية، ثم يوصل القطب الموجب بدائرةٍ كهربائيةٍ خارجية، ثم بالقطب السالب **cathode** للبطارية حتى نسمح للتيار الكهربى بالمرور.

ونجحت هذه البطارية الحيوية فى تشغيل آلاتٍ حاسبةٍ، وأيضاً ساعات رقمية ولساعاتٍ طويلة، ومازال البحث جارياً لتطوير الطاقة الكهربائية التى تنتجها مثل هذه البطارية، وربما أمكن استغلالها -فى المستقبل القريب- لتشغيل جميع الأجهزة المنزلية بمثل هذه البطارية التى تعمل بفطر خميرة الخباز، والتى نأكلها يومياً فى خبزنا.

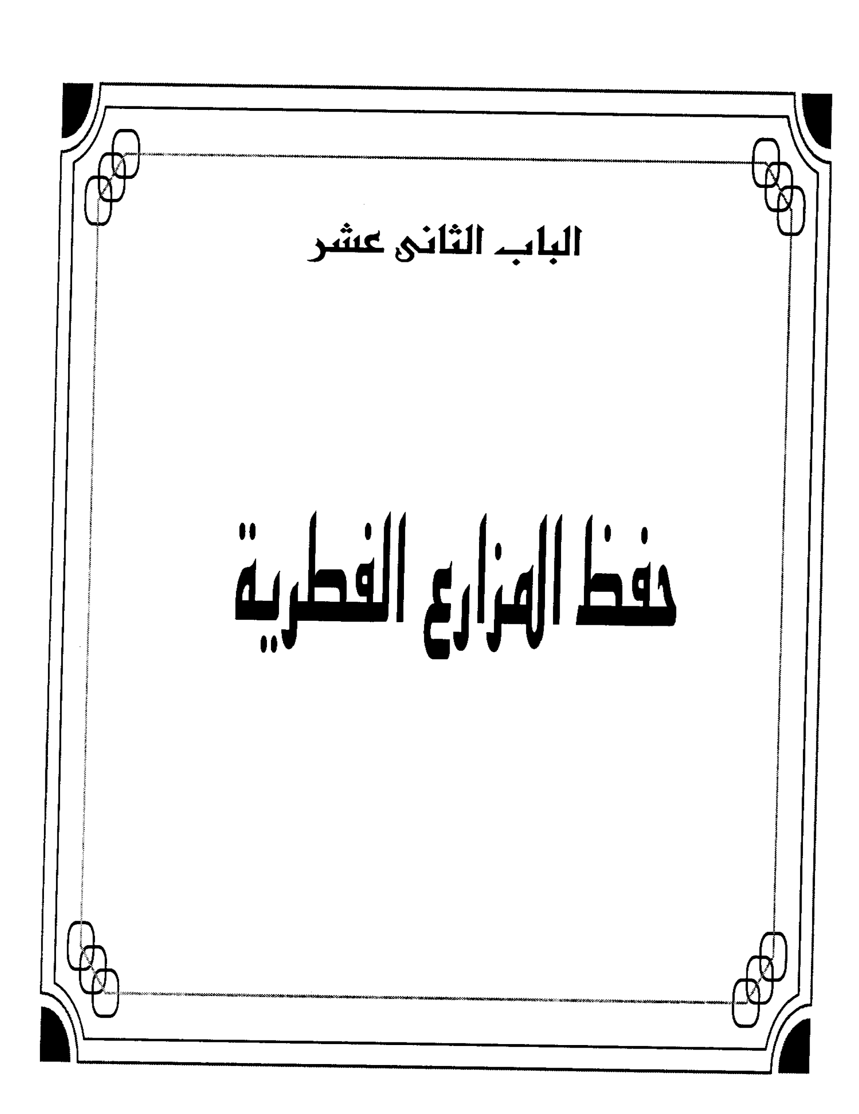
ليس هذا فحسب، فإن هذه البطارية الحيوية ليست مصدراً جديداً للطاقة فقط، ولكنها تعتمد فى تشغيلها على إنماء فطر الخميرة على المخلفات العضوية، ويعنى ذلك إعادة تدوير هذه المخلفات فيما يفيد، وهكذا تتحول المخلفات بفعل فطر الخميرة إلى مصدرٍ للكهرباء، نستفيد منها فى شتى الأغراض.

واليوم – ونحن نستكشف الفضاء اللانهائى – يزداد احتمال عثورنا على حياة أخرى ربما تشبه مانعرفه من أحياء، وربما يكون مخالفاً لجميع توقعاتنا، حتى أصبح هناك علم قائم بذاته يهتم بدراسة أحياء الفضاء الخارجى **exobiology**.

وعلى الرغم من أن قطع الصخور التى تم جمعها من سطح القمر والمريخ، وأيضاً تلك القطع المتساقطة من الفضاء لم يظهر بها أى أثر للحياة، إلا أن ذلك لايقطع باستحالة وجود أحياءٍ ما فى ذلك الفضاء اللانهائى.

فعلى سبيل المثال هناك مناطق شاسعة من قارة أنتاركتيكا **Antarctica** فى القطب الجنوبى ذات مناخ وظروف بيئية تشابه تلك الموجودة على سطح المريخ، ولكن لم تشاهد أى مظاهر للحياة فى أى منهما. ولكننا نعلم أن هناك أحياء دقيقة تنمو داخل فراغات الصخور الهشة وبين شقوقها فى مناطق أخرى شديدة الشبه بالمناطق السابقة.

إننا لانعلم الكثير، ومازال الكون حولنا يلفه الغموض حتى ونحن على أعتاب القرن الواحد والعشرين. إن الإنسان المتحضر الذى غزا الفضاء، وجعل من الأرض قرية صغيرة بواسطة شبكة الاتصالات العالمية، مازال يحمل فى داخله شعور الإنسان البدائى تجاه عالم الفطريات، فيزداد اندهاشاً وتعجباً من قدراتها الخارقة التى سخرها له الله –سبحانه وتعالى– لخدمته وزيادة رفاهيته، وعليه فقط كشف النقاب عنها.



الباب الثانى عشر

حفظ المزارع الفطرية



حفظ المزارع الفطرية

مقدمة :

من الأهمية بمكانٍ حفظ مجموعة المزارع الفطرية **culture collection of fungi** المستخدمة فى المجالات الصناعية المختلفة فى المعامل المخصصة لذلك؛ حيث تكون متوفرةً دائماً بصورةٍ نقيةٍ وبحالةٍ جيدةٍ تسمح بإعادة استخدامها مراتٍ عديدةً كلما لزم الأمر. وحيث إنه يتم استخدام سلالاتٍ نقية **pure strains** من أنواع الفطريات ذات الأهمية الاقتصادية؛ لذا يجب اتباع الدقة عند تجديد مثل هذه المزارع.

وعادةً ماتكون هذه السلالات النقية ذات الأهمية الاقتصادية ناتجةً من عديدٍ من التجارب التى شملت سلالاتٍ بل وأنواعاً أخرى من الفطريات؛ بغرض الوصول إلى أفضلها من ناحية نشاطها الحيوى وإنتاجها لبعض نواتج التمثيل الغذائى المرغوبة. وعادةً ماتستخدم عديد من أنواع البيئات الغذائية المختلفة فى مثل هذه الاختبارات؛ وذلك تحت ظروفٍ بيئيةٍ متغيرةٍ؛ بغرض الوصول إلى أفضل الظروف الملائمة لنمو مثل هذه السلالات الفطرية وإنتاجها للمواد ذات القيمة الحيوية العالية.

وتتوقف التجهيزات اللازمة لإنشاء معمل لحفظ المزارع الفطرية على حجم العمل ونوعه، ولكن مثل هذه المعامل تشترك فى الطرق المستخدمة والاحتياطات التى يجب مراعاتها لتنقية العزلات الفطرية والاحتفاظ بها بصورةٍ نقيةٍ. ويمكن تلخيص أهم العوامل الأساسية اللازمة للحفظ الناجح للمزارع الفطرية فيما يلى:

* يجب حفظ جميع المزارع الفطرية بحيث تحتفظ بحيويتها لأطول فترة ممكنة.
* يجب حفظ كل سلالةٍ فطريةٍ على صورةٍ نقيةٍ.
* يجب حفظ كل سلالةٍ أو نوعٍ من الفطريات المراد حفظها بصورةٍ تحفظ لها صفاتها الأولية التى كانت تتميز بها عند ضمها لمجموعة المزارع الفطرية.

١- إنماء المزارع الفطرية:

يعتبر الهدف الأساسى من أى حفظٍ للمزراع الفطرية هو الاحتفاظ بتلك المزارع الفطرية فى حالةٍ صحيةٍ جيدةٍ. وللوصول إلى هذا الهدف، فإنه يجب البدء بمزارع فطريةٍ جيدةٍ تم تحضيرها، سواء من عزلاتٍ حديثةٍ، أم باستخدام طرق الإنماء الصحيحة لتلك الفطريات.

وعادةً مايتم إنماء هذه الفطريات -للأغراض التطبيقية- على بيئة الآجار المائل agar slants، ومحاولة البحث عن ظروف النمو المثلى لمثل هذه الفطريات، والتى تعتمد على درجة الحرارة، والاحتياجات الضوئية، والنشاط المائى، والعناصر الغذائية اللازم توافرها فى بيئة النمو، بالإضافة إلى رقم الحموضة pH، وتوافر الأكسوجين والرطوبة.

أ- درجة الحرارة:

تختلف درجات الحرارة المثلى للنمو باختلاف نوع الفطريات المراد إنماؤها. وبرغم أن معظم الفطريات تنمو بصورةٍ مرضيةٍ عند ٢٠°م-٢٥°م (درجة حرارة الغرفة)، إلا أن بعض الفطريات تنمو بصورةٍ أفضل عند درجة حرارة أقل من ٢٠°م؛ مثال ذلك بعض الأنواع التابعة لمجموعة ***Aspergillus glaucus***، بينما هناك فطريات محبة لدرجات الحرارة المرتفعة **thermophilic**؛ حيث تكون درجة الحرارة المثلى لنموها أعلى من ٢٥°م.

ومعظم المزارع الفطرية تزداد فترة حفظها كلما انخفضت درجة حرارة تخزينها؛

مثال ذلك عند درجة تبريد تتراوح بين ٤°م و ٨°م، فى حين أن بعض الفطريات المحبة لدرجات الحرارة المرتفعة تفقد حيويتها، وتموت إذا حفظت على درجات الحرارة المنخفضة لفترةٍ طويلةٍ.

ب- الضوء:

تتميز بعض أنواع الفطريات -وخاصةً تلك النامية تحت ظروفٍ طبيعيةٍ معرضة للضوء - بأنها تتجرثم بصورةٍ أفضل تحت ظروف الإضاءة الجيدة، ومن المحتمل أن يتم إنماء غالبية هذه الأنواع الفطرية فى المعمل؛ بحيث تكون معرضة لأشعة ضوء النهار.

وعلى العكس من ذلك، فإن بعض الفطريات المترممة -وأيضاً عديداً من فطريات التربة- ليست حساسةً للضوء. وعلى الرغم من ذلك فإن الفطريات الحساسة للضوء مثل معظم الفطريات الهيفية الداكنة اللون **dematiaceous hyphomycetes**، وكذلك بعض الفطريات الأسكية، والفطريات التابعة لرتبة سفيروبسيدالات **Sphaeropsidales** تكّون جراثيمها بصورة أفضل فى وجود حثٍّ إضافيٍّ من الضوء الأسود **Black light**؛ وهى الأشعة فوق البنفسجية القريبة.

جـ- النشاط المائي water activity:

يجب أن يوضع فى الحسبان عند إنماء المزارع الفطرية فى المعمل أن بعض الأنواع لاتنمو جيداً تحت ظروف الضغط الآسموزى العادى؛ حيث إنها تكون معزولةً -عادةً- من بيئةٍ عالية الجفاف، أو ذات محتوى مائيٍّ قليلٍ؛ مثال ذلك الفطر ***Aspergillus penicillioides***. لذلك يتم إنماء مثل هذه الفطريات على بيئة ذات نشاطٍ مائيٍّ قليلٍ؛ مثل بيئة آجار الخميرة والجليسرول **Glycerol Yeast Agar (GYA)**، أو على بيئة المولت المضاف إليها ٢٠٪ سكروزاً.

د- البيئات الغذائية:

يجب أن تكون البيئات المستخدمة فى إنماء الفطريات كافية للنمو الفطرى دون زيادةٍ تدفعه إلى تكوين جراثيم؛ فعلى سبيل المثال، فإن معظم الأنواع التابعة للجنسين

Aspergillus و *Penicillium* تنمو نمواً نموذجياً على بيئة زابكس، بينما هناك فطريات أخرى تنمو أنواعها بصورةٍ أفضل على بيئة مستخلص المولت.

وهناك بيئات أخرى يتم تصنيعها من مستخلصات الخضراوات؛ مثل البطاطس والجزر، وأيضاً من مخلوط منهما. وتوفر مثل هذه المستخلصات -عادةً- عناصر النمو الهامة للفطريات المراد إنماؤها دون أن تسبب زيادةً للنمو الهيفى على حساب تكوين الجراثيم.

وتعتبر بيئة مستخلص دقيق الشوفان **oat-meal medium**، وكذلك بيئة مستخلص دقيق الذرة **corn-meal medium**، من أفضل البيئات المستخدمة فى تنمية الفطريات الهيفية الداكنة اللون **dark coloured hyphomycetes**؛ حيث تعمل مثل هذه البيئات على زيادة إنتاج الجراثيم دون تكوين مزيدٍ من النموات الميسليومية الهوائية **aerial mycelium**. وبالإضافة إلى ماسبق فإن الآجار المائى المجهز بقطع من قش القمح أو بقطع من الخضروات عادةً مايتم استخدامه لإنماء بعض الفطريات فى المعمل.

هـ- رقم الحموضة:

تنمو معظم الفطريات جيداً عند رقم حموضة يتراوح بين ٤-٧، بينما تتحمل بعض العزلات الفطرية رقم حموضةٍ منخفضاً يصل إلى ٢؛ ومثال ذلك الفطر *Aspergillus niger*.

و- الأكسوجين:

تحتاج الفطريات إلى الهواء فى نموها؛ لذلك تستخدم سدادات تسمح بتبادل الغازات بطريقةٍ كافيةٍ -مثل السدادات القطنية والأغطية غير المحكمة- وذلك فى أنابيب الاختبار والدوارق المستخدمة فى إنماء الفطريات. إلا أن هناك عدداً قليلاً من الفطريات المائية تحتاج إلى دفع الهواء فى محلول البيئة المستخدمة فى التنمية؛ حتى يمكنها التجرثم، ولكن مثل هذه الفطريات لاتمثل أهميةً صناعيةً، ولكن أسلوب دفع

الهواء يتبع فى محلول تنمية الفطر؛ وذلك خلال مراحل التخمرات الصناعية industrial fermentations.

٢- طرق حفظ المزارع الفطرية:

أ- إنماء الفطر:

تعتبر أبسط طريقة لحفظ المزارع الفطرية إنماءها على الآجار المائل، ثم نقلها على سطح بيئةٍ حديثة التجهيز؛ وذلك قبل استهلاك الفطر للعناصر الغذائية فى البيئة القديمة أو قبل أن تجف نمواته.

وفى بعض العزلات الفطرية لاتوجد طرق أخرى يمكن استعمالها بنجاحٍ لإنماء الفطريات، ولكن معظم الفطريات يمكن إنماؤها بوسائل مختلفةٍ، وعلى بيئاتٍ غذائيةٍ متعددةٍ.

ب- مشاكل تكرار إنماء المزارع الفطرية:

يتبع تحت الظروف العادية إعادة إنماء المزارع الفطرية على فتراتٍ متقاربة دون أن يصادف ذلك مشاكل ما، قد تكون كل أربعة أو ستة أو ثمانية أشهر، إلا أن ذلك يتطلب مجهوداً شاقاً عندما يكون عدد المزارع الفطرية المراد تجديدها كبيراً. كما أن تداول المزارع الفطرية لعدة مراتٍ بغرض تجديدها وإعادة تنميتها يصادفه الكثير من المخاطر؛ من أهمها:

* بعض العزلات الفطرية يتحول نموها الميسليومى إلى خيوطٍ هوائيةٍ ضعيفةٍ عقب كل مرةٍ يتم تجديدها؛ وهذا يؤدى إلى ضعف السلالة الفطرية، وربما موتها فى النهاية.
* تعرض العزلات الفطرية عند تكرار إعادة نموها لظروفٍ بيئيةٍ مختلفةٍ.
* تَعَمُّد القائم على العمل اختيارَ اللقاح الفطرى المناسب؛ لتجديد نمو الفطر من أفضل النموات الفطرية التى قد تكون لنمواتٍ قديمةٍ؛ لذلك يجب أن تؤخذ فى

الحسبان حالة المزرعة الفطرية المنتخبة وعمرها عند اختيارها لعمل مزارع فطرية أخرى منها.

* تتعرض المزارع الفطرية عند فتحها -في كل مرة- للتلوث بالأحياء الدقيقة الأخرى أو الإصابة بالآفات التى تهددها مثل الأكاروس وغيره.

٣- طرق حفظ المزارع الفطرية:

لكى نتجنب تداول المزارع الفطرية لعديد من المرات ومايحوط ذلك من مشاكل عديدة، فإنه تجب إطالة مدة حفظ هذه المزارع؛ بحيث تكون الفترات اللازمة لإعادة إنماء الفطر متباعدةً قدر الإمكان؛ حيث يتم ذلك بوسائل متعددة؛ منها مايلى:

أ- التخزين المبرد:

تبقى المزارع الفطرية النامية فى زجاجات أو أنابيب زجاجية محتفظة بحيويتها وبحالة صحية جيدة لمدة طويلة تصل إلى خمس سنوات إذا خزنت على درجات حرارة منخفضة، سواء فى ثلاجة على حرارة ٤ْم-٨ْم، أو تحت ظروف التجميد العميق deep freeze على -٢٠ْم، إلا أن بعض الفطريات البيضية Oomycetes والفطريات المائية water moulds لاتصلح لها هذه الطريقة.

ب- التخزين تحت سطح الزيت oil storage:

قد يتبع -أحياناً- تغطية النموات الفطرية الجيدة بطبقة من زيت معدنىّ (mineral oil) سمكها حوالى سنتيمتر واحد فوق طبقة نمو الهيفات الفطرية؛ حتى يحتفظ بها دون جفافها، ومن أكثر الزيوت المعدنية استخداماً زيت البرافين.

وتتميز طبقة الزيت المعدنى بأنها تسمح بانتشار بطىء للغازات؛ وبذلك يستمر الفطر فى نموه ولكن بمعدل بطىء. وقد تؤدى هذه الظروف إلى حدوث تغير راجع إلى تأقلم الفطر فى نموه تحت طبقة الزيت.

وتظهر بعض العزلات الفطرية ثباتاً فى صفاتها وبقائها محتفظةً بحيويتها لمدة تزيد

على عشرين عاماً، باتباع هذه الوسيلة من التخزين، كما هى الحال فى معهد الكومنولث للفطريات Commonwealth Mycological Institute (CMI). إلا أن هناك عزلاتٍ فطريةً أخرى تتغير صفاتها بسرعةٍ، منتجةً نمواتٍ غير طبيعيةٍ خلال شهورٍ قليلةٍ، كما هى الحال فى الأنواع التابعة للفطر ***Fusarium***.

ويمكن تخزين المزارع الفطرية على درجة حرارة الغرفة، ولكن يمكن الاحتفاظ بحيوية هذه المزارع بصورةٍ أفضل عند تخزينها على درجات حرارةٍ منخفضةٍ؛ حوالى ١٥°م.

ويعتبر التخزين تحت سطح الزيت إحدى الوسائل المتبعة لإطالة عمر المزارع الفطرية؛ حيث تعيش لفترةٍ أطول؛ وبذلك يمكن إطالة مدة حفظ مزارع الفطريات المائية؛ مثل الفطر ***Achlya***، والفطريات التابعة لرتبة الكيتريدالات **Chytridales** إلى حوالى ١٢-١٨ شهراً بدلاً من الاحتفاظ بها لفترة ٤-٦ أسابيع فقط؛ وبذلك تتم إعادة إنماء الفطر لعمل مزارع جديدةٍ كل ستة شهورٍ بدلاً من كل أربعة أسابيع. ويعيب هذه الطريقة عدم نظافتها، لكنها تتميز بسهولتها ورخصها.

جـ- وقف التمثيل الغذائي:

قد يلجأ العاملون فى معامل حفظ المزارع الفطرية إلى وقف التمثيل الغذائى للميسليوم الفطرى أو للجراثيم كوسيلةٍ تتبع حديثاً فى تجهيز وحفظ الفطر. وتتم إعادة هذا الفطر لنشاطه مرةً أخرى بعد ذلك. ومن الطرق المتبعة لوقف التمثيل الغذائي للفطريات التجفيد والتجميد.

* **التجفيد freeze drying** :

تعتبر هذه الوسيلة -والتى يطلق عليها **lyophilization**- أكثر الوسائل الشائع استخدامها، والتى يتم خلالها وقف التمثيل الغذائى للفطر. ويتم ذلك عن طريق تجهيز معلقٍ للجراثيم فى بيئة تعليق النمو **suspending medium**.

ولقد وجد معهد الكومونولث للفطريات **Commonwealth Mycological Institute** أنه من المناسب استخدام بيئةٍ تحتوى على ١٠٪ لبن فرز **skimmed milk**، و٥٪

كحول الإينوسيتول inositol فى ماءٍ مقطرٍ؛ وذلك لحماية الفطر المرغوب حفظه من تأثير عمليات التجميد.

وتستعمل إمبولات زجاجية صغيرة لحفظ السلالة الفطرية، ثم يتم تجفيفها تحت تفريغ وهى مجمدة. وبعد إتمام المرحلة السابقة يتم إغلاق الإمبولات إغلاقاً محكماً؛ محتفظةً بحالة التفريغ الداخلى.

ويفضل بعض العاملين فى مجال حفظ الفطريات ملء الإمبولات المستعملة فى تجفيد السلالات الفطرية بالنتروجين المعقم قبل إحكام إغلاقها، ويمكن استخدام جهازٍ بسيط التركيب إذا كان حجم العمل محدوداً، أما فى المعامل الكبيرة المتخصصة فى إنتاج سلالاتٍ فطريةٍ مجفدةٍ بغرض الاستخدام الصناعى، فإنها تستخدم أجهزةً متطورةً لتفى باحتياج الإنتاج لمثل هذه الفطريات على نطاقٍ واسعٍ.

وتعتبر هذه الطريقة فى حفظ الفطريات من الطرق الجيدة الشائعة الاستخدام، حيث إنه من السهل حفظ الأمبولات المجهزة دون كسرٍ ولمدد طويلة تصل إلى عدة سنواتٍ يحتفظ خلالها الفطر بحياته، ويمكنه استعادة نشاطه مرةً أخرى.

وتصل نسبة العزلات الفطرية التى يتم حفظها مجفدةً فى معهد الكومونولث للفطريات إلى حوالى ٦٠-٧٠٪؛ حيث تشمل هذه العزلات فطرياتٍ مكونةً لجراثيم بسيطة التركيب.

وعلى أية حال، تصلح هذه الطريقة فقط للفطريات المتجرثمة **sporulating fungi** ولاتصلح ـ إلا تحت شروط خاصة ـ لحفظ فطريات الميكوريزا **Mycorrihizal fungi** .

إلا أن بعض الفطريات تفقد حيويتها خلال عملية التجفيد، كما هى الحال فى المزارع الميسليومية **mycelial cultures** للجنسين ***Pythium*** و***Phytophthora***، وكذلك تلك الأنواع الفطرية ذات الجراثيم الهشة الضعيفة.

*** التجميد :**

يزداد تخزين الكائنات الحية الدقيقة عن طريق تجميدها **cryogenic storage** يوماً بعد يوم؛ وذلك على درجات حرارةٍ بالغة الانخفاض؛ حيث أظهرت الفطريات قدراتٍ

عالية على تحمل التجميد دون أن تفقد حيويتها. ومن أقل الفطريات حفظًا بالتجميد فى النتروجين السائل مجموعة Mastigomycotina؛ حيث إنها حساسة للتأثير الميكانيكى لعمليات إعداد المعلق.

وتستعمل -عادةً- مادة معينة لتعليق نمو الميسليوم الفطرى المراد تخزينه، وهى إما الجلسرول بتركيز ١٠٪ أو داى ميثيل سلفوكسيد (Dimethylsulfoxide (DMSO، وبعد ذلك تجمد هذه المزارع الفطرية باستعمال النيتروجين السائل فى أوعية خاصة.

ومن أهم العوامل التى تجب مراعاتها فى هذه الطريقة معدل الانخفاض فى درجة الحرارة؛ وهو يختلف باختلاف السلالة الفطرية، فبعضها تحتاج إلى معدلٍ سريع ٥٠-١٠٠ْم/ دقيقة، والبعض الآخر يحتاج إلى معدلٍ بطيءٍ يصل إلى ٤-١٠ْم/ دقيقة.

فقد وجد أن عملية إنكماش الخلايا cell shrinkage أثناء التجميد هى العامل المحدد لحيويتها أثناء التخزين، وبالتالى فإن السرعة فى التبريد لاتعطى الخلايا الفرصة فى الانكماش، ولذا فإن السوائل الإلكتروليتية الخلوية لاتتركز، ولكن تتكون بللورات ثلجية كبيرة داخل الخلايا مما يعمل على إتلاف مكوناتها الداخلية.

وتتم عملية التجميد بتنمية الفطر فى البيئة المناسبة، ثم إضافة محلول ١٠٪ جلسرول معقم وتجمع الجراثيم به، أما فى حالة الفطريات غير المتجرثمة يؤخذ مكعب من البيئة الغذائية النامى عليها هيفات الفطر باستخدام ثاقب الفلين، ويضاف إليه ٠,٥ ملل من الجلسرول.

وفى حالة الخميرة، يتم عمل معلق خلوى فى البيئة يحتوى على ١٠^{٦}-١٠^{٧} خلية/ملل ثم يضاف اليه حجم مساوٍ من محلول ١٠٪ جلسرول؛ بحيث يكون تركيز الجلسرول النهائى ٥٪.

وينقل مخلوط الجراثيم مع مادة الحماية (الجلسرول) إلى أوعية الحفظ ـ غالبا باستخدام أنابيب شعرية من البولى بروبيولين ـ وبعد إغلاقها تجمع فى أوعية الومنيوم صغيرة، ثم توضع فى قمة الوعاء الذى يحتوى على النتروجين السائل، والذى يكون به بخار النتروجين؛ كى يبدأ التبريد بمعدل درجة مئوية/دقيقة حتى الوصول إلى

حرارة -٣٥°م ؛ حيث يستغرق ذلك نحو ٤٠-٤٥ دقيقة، بعد ذلك تغمر في أوعية الحفظ فى النتروجين السائل للوصول الى -١٩٦°م.

وتتم استعادة هذه المزارع الفطرية لحيويتها عن طريق إزالتها من الأوعية المفرغة، وتترك فى الجو العادى حتى تفقد برودتها الشديدة، ثم تنمى على بيئةٍ غذائيةٍ مناسبةٍ بالطريقة المعتادة.

ويوفر النيتروجين السائل درجة حرارةٍ بالغة الانخفاض تصل إلى ١٩٦ درجة مئوية تحت الصفر، وتعتبر هذه الدرجة كافيةً لوقف حيوية المزرعة الفطرية؛ حيث إن العمليات الحيوية تقف تماماً إذا ماانخفضت درجة الحرارة إلى ١٣٠ درجة مئوية تحت الصفر؛ وبالتالى تستمر هذه الفطريات المحفوظة فى النيتروجين السائل فى حالة توقفٍ مؤقتٍ عن الحياة طوال فترة وجودها تحت هذه الظروف.

ويعتبر تخزين الكائنات الحية الدقيقة -عن طريق استعمال النتروجين السائل- طريقةً باهظة التكاليف، لكنها أفضل الطرق، إلا أنها مستعملة فى بعض الحالات الخاصة للمزارع الفطرية ذات الأهمية الصناعية.

هـ- طرق أخرى لحفظ المزارع الفطرية:

لا تُتاح لمعظم المعامل المتخصصة فى حفظ مزارع السلالات الفطرية ذات الأهمية الصناعية حفظ مزارعها تحت ظروف التجفيد، أو التجميد البالغ البرودة باستعمال النيتروجين السائل. كما أن كثيراً من العاملين فى هذا المجال ينقصهم الوقت الكافى لنقل النموات الفطرية بصورةٍ دوريةٍ على بيئاتٍ غذائيةٍ متخصصةٍ، لكى تستمر عزلاتهم الفطرية محتفظةً بحيويتها لفترةٍ كافية، كما أنهم يجدون فى طريقة حفظ النموات الفطرية تحت طبقةٍ من الزيت طريقةً غير مرغوبة. وفى مثل هذه الحالات يمكن اتباع طرق أخرى لحفظ المزارع الفطرية؛ مثال ذلك مزارع التربة، ومزارع السليكاجيل، والحفظ في الماء.

*** مزارع التربة soil cultures:**

تستعمل فى هذه الحـالة تربة خاصة مكـونة من طينٍ ورملٍ ومادةٍ عضويةٍ (تربة

خصبة loom)، يتم تعقيمها فى الأوتوكلاف، ثم يضاف معلق من جراثيم الفطر المراد حفظه عليها، ويترك لينمو حوالى عشرة أيام.

ويتم تخزين المزارع الفطرية فى ثلاجة على حرارة ٥ْم-٨ْم. وتعتبر هذه الطريقة مناسبةً لإنماء الأنواع التابعة للجنس *Fusarium* وللجنس *Septoria*، والتى سرعان ماتفقد حيويتها وتتدهور إذا ماتركت ناميةً على بيئة الآجار، ولكنها - عن طريق هذه الوسيلة فى الحفظ - تبقى لفتراتٍ طويلةٍ محتفظةً بحيويتها.

*** مزارع السيليكاجيل silica gel cultures:**

يتم تجهيز معلق من جراثيم الفطر فى لبن فرز skimmed milk، ثم يضاف ذلك المعلق إلى سيليكاجيل لا مائية anhydrous silica gel فى زجاجاتٍ ذات أغطيةٍ محكمة الأغلاق (تغلق حلزونياً).

ويترك المخلوط السابق ليجف لمدة حوالى ١٤ يوماً فى الزجاجات المفتوحة، وبعد تمام جفافها تغلق الزجاجات بإحكامٍ، وتخزن فى ثلاجةٍ، أو فى الجو العادى. ويلاحظ أنه عند إضافة الماء إلى مادة سيليكاجيل تتولد حرارة عالية؛ لذا يجب أن تكون المواد والمحاليل المستخدمة مبردةً قبل البدء فى مراحل تصنيع مزارع السيليكاجيل، وتتميز مثل هذه المزارع بقدرتها على الاحتفاظ بحيويتها لسنواتٍ طويلةٍ.

وتعتبر هذه الطريقة تعديلاً للطريقة التى اتبعها Roberts، ثم Ogata (1962)؛ وذلك بغرض حفظ المادّة الوراثية لفطر *Neurospora* المستخدم فى تجارب الهندسة الوراثية للفطريات؛ وهى تصلح فقط للفطريات المتجرثمة، ولاتصلح لحفظ المزارع الميسليومية mycelial cultures أو الفطريات التابعة للماستجومايسيتات Mastigomy-cationa.

* **الحفظ فى الماء water storage:**

أظهرت تجارب حفظ المزارع الفطرية فى الماء نجاحاً مذهلاً. ويتم ذلك عن طريق إنماء الفطر على بيئة آجار فقيرة فى محتواها من العناصر الغذائية فى أطباق بترى، وعندما تغطى النموات الفطرية سطح البيئة، تُقَطَّع إلى قطع صغيرة باستعمال مشرط معقم.

وتنقل قطع بيئة الآجار المغطاة بنموات الفطر -تحت شروط التعقيم- إلى زجاجات ذات فوهة تغلق بسدادات حلزونية تحتوى على كمية صغيرة من الماء المقطر المعقم، وبعد ذلك تغلق فوهة الزجاجات، وتحفظ الزجاجات فى درجة حرارة منخفضة (ثلاجات حفظ المزارع الفطرية).

وباتباع هذا الأسلوب يمكن حفظ المزارع الفطرية التابعة للجنسين *Pythium* و *Phytophthora* على حرارة ١٥°م. وتتبع هذه الطريقة فى حفظ الفطريات فى معهد الكومنولث للفطريات Commonwealth Mycological Institute (CMI)؛ حيث تبقى المزارع فى حالة جيدة لمدة تزيد على عامين. ويلاحظ أن الفطرين السابقين لايمكنهما الاحتفاظ بحيويتهما عند تخزينهما بطريقة التجفيف أو فى السيليكاجيل، بينما تعتبر طريقة التخزين فى الماء طريقة مناسبة لهما وللفطريات الأخرى الشبيهة بهما.

وهناك طرق أخري لحفظ المزارع الفطرية؛ منها حفظ جراثيم الفطريات فى الرمل، وكذلك تجفيف المزارع بعد نموها على ورق الترشيح، وتغطية المزارع الفطرية بشمع البارافين paraffin wax.

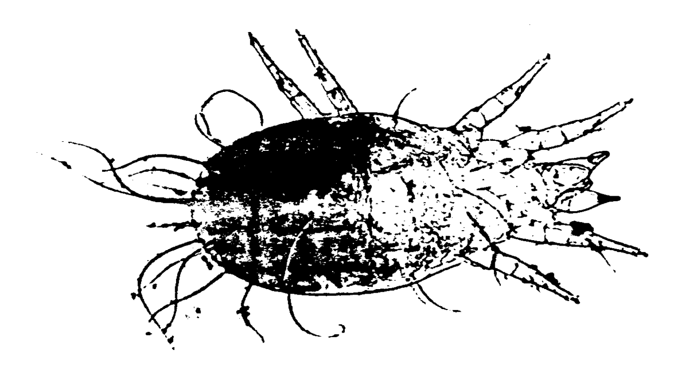
ويلاحظ أنه فى بعض الحالات تكون المزارع الفطرية المحتفظ بها دائمة الاستخدام، أو قد يكون من المرغوب حفظها ولكن لفترات قصيرة، وفى مثل هذه الحالات -وغيرها- ينصح بأن تتم تنمية العزلات الفطرية على بيئة الآجار المائل فى أنابيب اختبار زجاجية سواء كبيرة أم صغيرة.

بينما فى حالة رغبة المعمل فى حفظ عددٍ كبيرٍ من السلالات الفطرية لفتراتٍ طويلةٍ، فإنه يفضل اتباع طريقة التجفيد أو التجميد فى النيتروجين السائل. كما أن هذه الطريقة تعتبر مثالية عندما يتطلب الأمر إرسال سلالاتٍ فطريةٍ إلى معامل أخرى بعيدةٍ، سواء داخل البلاد أم خارجها.

٤- الأكاروسات ملتهمة الفطريات:

يعتبر هذا الحيوان الصغير (أربعة أزواج من الأرجل) أكثر الآفات التى تلوث معامل الفطريات فى العالم؛ فقد تحتفظ المزارع الفطرية بحالةٍ نقيةٍ لسنواتٍ طويلةٍ دون مشاكل ما، وفجأة تظهر مئات من هذه المزارع ملوثةً.

لذا يجب على القائمين على العمل فى معامل الفطريات الاهتمام الدائم والمستمر ليس فقط بالمزارع الفطرية، ولكن أيضاً بما يحيط بها من مصادر تلوث، قد يحمل بعضها مثل هذه الأكاروسات المدمرة، التى قد تؤدى إلى فقد عديدٍ من السلالات الفطرية ذات الأهمية البالغة.



شكل (١٥٣) : أكاروس الفطريات fungal mite .

وتختلف أكاروسات الفطريات فيما بينها من ناحية الشكل والحجم، ولكن عندما نشاهدها وهى تلوث المزارع الفطرية، فإن العين لاتخطئها أبداً. ويصل طول الأكاروس البالغ إلى نحو ٢٠ ميكروناً؛ لذا فلا يمكن رؤيته بالعين المجردة.

وتتغذى هذه الأكاروسات على النموات الفطرية، وتجد فيها غذاءً شهياً. وهى تتحرك بحرية بين المزارع الفطرية، وتتخلل السدادات القطنية نظراً لضآلة حجمها. وعندما يشاهد أحد هذه الحيوانات الصغيرة المدمرة فى مزرعة فطرية ما، فإنه يجب فحص جميع المزارع الموجودة فى المعمل فحصاً جيداً باستعمال المجهر.

كما تجب ملاحظة وجود بيض الأكاروسات خلال الفحص المجهرى؛ حيث إنه من الصعب قتلها بالمقارنة بالحيوانات الكبيرة والصغيرة. ويتميز بيض الأكاروس بلونه الباهت، ولكن يبدو لونه بنياً داكناً عند فحص المزارع الفطرية بواسطة المجهر الضوئى العادى. وبالمقارنة بحجم جراثيم الفطريات، فإن بيض الأكاروس كبير الحجم، ويسهل تمييزه.

وتقوم الأكاروسات الضارة بالمعامل الفطرية بالتهام النموات الفطرية، مؤديةً إلى تلويثها، نظراً لتحركها من مزرعة إلى أخرى، حاملةً على جسمها جراثيم السلالات المختلفة من هذه الفطريات أينما ذهبت، سواء داخل الأطباق البترى، أم داخل أنابيب المزارع الفطرية النامية على بيئة الآجار المائل؛ حيث تزحف هذه الحيوانات الضئيلة الحجم من خلال السدادات القطنية، وأيضاً من خلال السدادات المعاملة بالبارافين **paraffined plugs**.

ولقد وجد أنه عندما تكون السدادات المستعملة فى إغلاق المزارع الفطرية محكمةً، فإن الأكاروسات تفقد كثيراً من الجراثيم العالقة بجسمها خلال زحفها عبر السدادة إلى داخل المزرعة الفطرية، وفى هذه الحالة لايحدث تلوث -عادةً- بفطريات أخرى، بينما يرجع الضرر الرئيسى إلى التهام الأكاروس للنموات الفطرية. وقد يعمل نقل جراثيم الفطريات -التى تبقى محتفظةً بحيويتها داخل القناة الهضمية للأكاروس- على تلوث المزارع الأخرى.

وليس من السهل مكافحة أكاروسات الفطريات؛ حيث إنها تقطن جميع أنواع المواد الخام، وأيضا على الأجهزة والمستلزمات المعملية، وقد تكون ملوثةً للمزارع الفطرية القادمة من المعامل الأخرى؛ لذلك فمن الضرورى اتباع الوسائل الصحية؛ وذلك لمنع دخولها إلى معامل الفطريات وحجرات حفظ المزارع الفطرية.

ويلزم الحذر الدائم من مخاطر الأكاروسات، وخاصةً خلال الطقس الحار الرطب، فإذا ماظهرت بوادر وجود بعض أفراد من هذه الأكاروسات، فإنه يجب إعلان حالة الطوارىء فى المعمل كله. وعادةً مايتبع تطهير المزارع الفطرية؛ وذلك بتعريضها لبخار بعض المواد السامة للأكاروسات، ولكن يجب أن تكون غير ضارةٍ للنموات الفطرية.

ولقد اتبع استخدام مادة **p-dichlorobenzene** وكذلك الكيروسين الخام -فيما مضى- كمواد فعالةٍ ضد الأكاروسات، إلا أن المادة الأولى تعتبر مادةً مسرطنةً، بينما لايمتد مفعول المادة الثانية (الكيروسين) لفترةٍ طويلةٍ.

ويتبع حالياً استخدام مواد مختلفة قاتلة للأكاروسات **acaricides**؛ وذلك بمعهد الكومنولث للفطريات (**CMI**)؛ مثال ذلك مادة كيلثان **kelthane**؛ وهى تتركب من **4,4-dichloro-trichloromethyl-benzhydrol**، ومادة تديون **Tedion** ومادة كريبو **Crepo**. ومن المواد الحديثة استعمال مادة اكتليك **actellic**؛ وهو مبيد للأكاروس منتج من شركة **ICI** للاستخدامات الزراعية، وهو غير ضارٍ بمعظم الفطريات. وعلى أية حالٍ يجب اتباع الاحتياطات الصحية اللازمة عند استخدام مثل هذه المطهرات الكيماوية فى المعمل، كما ينصح بارتداء قفازات من البلاستيك خلال استعمال مثل هذه المواد السامة.

وهناك وسائل أخرى يلجأ إليها العاملون فى معامل الفطريات لحماية المزارع الفطرية من هجوم أكاروسات الفطريات؛ مثال ذلك إضافة مواد كيمائية سامة إلى السدادات القطنية المستعملة. ومن هذه المواد محلول كلوريد الزئبق الملون **coloured mercuric chloride solution**، إلا أن هذه المادة سامة.

ويستعمل فى معهد الكومنولث للفطريات (CMI) ورق البفرة (ورق رقيق يستخدم فى صناعة السجائر) فى إغلاق أنابيب المزارع الفطرية؛ حيث توضع فوق السدادات القطنية الشائع استعمالها، أو تدفع أسفلها، ويتم تثبيتها على حواف فوهة الأنابيب أو الزجاجات بمادةٍ لاصقةٍ تحتوى على كبريتات النحاس **copper sulphate gelatine glue**، والتى تتركب من ٢٠٪ كبريتات نحاس، و ٢٠٪ جيلاتين، و ٦٠٪ ماءً.

وإذا استعملت الزجاجات السابقة دون وجود سداداتٍ تحمى المزرعة الفطرية من التلوث، فإنه يجب تعقيم ورق البفرة المستخدم فى سد فوهات هذه الزجاجات. ويتم تعقيم ورق البفرة فى وعاءٍ زجاجيٍ، بأن تضاف إليه نقطة أو نقطتان من مادة أكسيد البروبيلين **propylene oxide**، ويغلق الوعاء، ويترك لمدة ليلة.

ويتميز ورق البفرة بأنه يسمح للهواء بالمرور بحرية من خلاله، بينما لايسمح للأكاروسات بالمرور، نظراً لأن ثقوب هذا الورق أقل بكثير من حجم هذه الحيوانات.

وهناك طرق أخرى تستعمل فى حماية المزارع الفطرية من أخطار هذه الأكاروسات، منها وضع قواعد الثلاجات فى أوعية تحتوى على قليلٍ من الماء؛ حيث يمنع ذلك إنتقال الأكاروسات لمهاجمة المزارع الفطرية الموجودة بها، وكذلك يمكن استعمال حواجز من الفازلين تلتصق عليها هذه الحيوانات الصغيرة عند اتجاهها إلى الأماكن المخزن بها المزارع الفطرية.

كما يجب إحكام إغلاق الأطباق البترى باستخدام شريطٍ لاصقٍ، وهذا يمنع دخول الأكاروسات داخله، وكذلك يقلل من جفاف البيئة الغذائية التى ينمو عليها الفطر. وعلى الرغم من اتباع هذه الطريقة فى إغلاق الأطباق البترى، إلا أن الأكاروسات قد تجد لنفسها منفذاً تعبر منه إلى داخل مثل هذه الأطباق وتلوثها.

وبالإضافة إلى ماسبق، فتوجد طريقة ممتازة لمنع تلوث المزارع الفطرية بالأكاروسات، وذلك بحفظها داخل ثلاجةٍ على درجة حرارة منخفضة لاتزيد عن ٨°م. ولاتفضل

الأكاروسات مثل هذه الأماكن الباردة. وإذا ماوجدت الأكاروسات فى مثل هذه الظروف من البرودة، فإنها تتحرك ببطءٍ شديدٍ، ولاتنتشر، مما يحد من خطورتها فى تلويث المزارع الفطرية المحفوظة. ولكن سرعان ماتستعيد هذه الاكاروسات نشاطها عندما يتم إخراج المزارع الفطرية إلى درجة حرارة الغرفة. ولاتهاجم الأكاروسات المزارع الفطرية المحفوظة تحت طبقةٍ من الزيت.

٥- تسجيل بيانات المزارع الفطرية :

من الأهمية تسجيل جميع البيانات الخاصة بسلالة الفطر المراد حفظه فى معمل حفظ الفطريات، وتشمل البيانات الاسم العلمى للفطر، ومصدره، والمكان الذى تم عزله منه، وتاريخ العزل واسم القائم على العمل، وغير ذلك من بيانات أخرى هامة.

وبعد هذا التسجيل الأولى للعزلة الفطرية، يجب أن يهتم العاملون فى معمل حفظ الفطريات بتسجيل وصفٍ شاملٍ للعزلة الفطرية عند وصولها إليهم، وكذلك أية تغيراتٍ تطرأ عليها خلال حفظها فى المعمل.

وتعتبر متابعة العزلات الفطرية فى المعمل بصفة دورية من الأهمية بمكان، خاصة عندما يزداد عدد هذه العزلات الفطرية فى المعمل، وكذلك عند تسليم هذه العزلات إلى عاملين جدد. ويراعى تسجيل ظروف إنماء العزلات الفطرية وغيرها من البيانات على بطاقاتٍ خاصة بذلك، ثم تفريغها فى برنامج خاص فى الحاسب الآلى لسهولة المتابعة.

٦- بنوك المزارع الفطرية culture collections:

يقصد بذلك جمع عدد كبير من المزارع النقية لسلالاتٍ فطريةٍ ذات أهميةٍ خاصةٍ فى أحد المعامل الملحقة بمراكز البحوث الفطرية، والتى يتم تجهيزها بحيث يمكنها إمداد المعاهد العلمية الأخرى والمصانع وكذلك الأفراد العاملين فى مجال الفطريات باحتياجاتهم من هذه المزارع الفطرية بصورةٍ دوريةٍ.

ويعتبر معهد بحوث الفطريات Centraalbureau voor schimmelcultures (CBS) بمدينة بارن بهولاندا هو أكبر هذه المعاهد المتخصصة فى مجال حفظ المزارع الفطرية وتقديمها لمن يطلبها من العاملين فى هذا المجال.

كما يوجد فى إنجلترا معهد الكومنولث للفطريات Commonwealth Mycological Institute (CMI) بمدينة كيو kew؛ حيث يُصدر قائمةً بالسلالات الفطرية الموجودة لديه من وقتٍ إلى آخر. وهناك معاهد أخرى تهتم بحفظ بعض السلالات الفطرية التى تهتم بدراستها، أو تكون ذات أهمية خاصة مثل الفطريات الصناعية المستخدمة فى بلد ما، أو الفطريات ذات الثمار الكبيرة المأكولة مثل فطريات عيش الغراب.

٧ : تركيب بعض البيئات الغذائية المستعملة في إنماء الفطريات:

ا - بيئة زابك Czapeck- medium:

أ - بيئة زابك المركزة Concentrate Czapeck- medium:

نترات صوديوم	$Na\ No_3$	٣٠ جرام
كلوريد بوتاسيوم	Kcl	٥ جرامات
كبريتات مغنسيوم	$Mg\ So_4.\ 7H_2o$	٥ جرامات
كبريتات حديدوز	$Fe\ So_4.\ 7H_2o$	٠,١ جراماً
مـــاء		١٠٠٠ ملياليلتر

ب - أجار زابك إبروديون داي كلوران لتنمية جنس *Fusarium* : (Czapek iprodione dichloran agar)

سكروز	٣٠ جرام
مستخلص خميرة	٥ جرامات
كلورامفينيكول (٠,٢٪ فى كحول ايثانول = ١ ملل)	١٠٠ ملليجرام
بيئة زابك المركزه	١٠ ملليلتر
كبريتات نحاس	٥ ملليجرام
كبريتات زنك	١٠ ملليجرام
آجار	١٥ جراماً
ماء مقطر	لتر واحد
معلق ابروديون	ملل واحد

تخلط المكونات وتعقم على ١٢١°م/ ١٥ دقيقة ويضاف ابروديون (محلول ٣, جم مادة Roval sowp المنتجه من شركة Rhone- Poulenc Agro- Chemie, Lyon, France مذابة فى ٥٠ ملل ماء معقم، ويتم رجها قبل الاضافة للبيئه.

حـ - أجار زابك ومستخلص الخميرة Czapok yeast extract agar لتنمية الفطر *Pen-icillium*

فوسفات ثنائى البوتاسيوم	جرام واحد
بيئة ذابك المركزة	١٠ ملل
كبريتات نحاس	٥ ملليجرام
كبريتات زنك	١٠ ملليجرام
مستخلص خميرة	٥ جرامات
سكروز	٣٠ جراماً
آجار	١٥ جراماً
ماء مقطر	لتر واحد

تعقم على ١٢١°م/ ١٥ دقيقة ورقم الحموضة النهائى ٦,٧ .

د - بيئة أجار ذابك ومستخلص الخميره والسكروز بنسبة ٢٠ ٪ Czapek yeast extract agar with 20% sucrose agar لتنمية الفطر *Eurotium* .

فوسفات ثنائى البوتاسيوم	جرام واحد
بيئة زابك المركزه	١٠ ملليلترات
مستخلص خميرة	٥ جرامات
سكروز	٢٠٠ جرام
اجار	١٥ جراماً
ماء مقطر	لتر واحد

تعقم على ١٢١°م / ١٥ دقيقة ورقم الحموضه النهائى ٥,٢ .

٢ – بيئات تنمية عامة للفطريات :

أ– آجار البطاطس والدكستروز **Potato dextrose agar**

بطاطس	٢٥٠ جراماً
جلوكوز	٢٠ جراماً
أجار	١٥ جراماً
ماء مقطر	لتر واحد

تغسل البطاطس وتقطع إلى شرائح أو مكعبات صغيرة وتوضع فى ٥٠٠ ملليلتر ماء، وتغلى لمدة ٣٠ – ٤٥ دقيقة، وفى نفس الوقت يذاب الاجار فى ٥٠٠ ملليلتر ماء. يصفى البطاطس خلال عدة طبقات من الشاش، وينقل إلى الوعاء المحتوى على محلول الآجار ثم يضاف الجلوكوز ويكمل الحجم النهائى إلى لترٍ بالماء المقطر، ويعقم على ١٢١°م / ١٥ دقيقة.

ب– بيئة آجار الداى كلوران والكلورو امفينيكول ومستخلص المولت **Dichloran chloramphenicol malt extract agar** لتنمية الفطر ***Alternaria*** وغيره من الفطريات الهيفية :–

مستخلص مولت	١٠ جرامات
داى كلوران	٢ ملليجرام
كلورامفينيكول	٠,١ جراماً
اجار	١٥ جراماً
ماء مقطر	لتر واحد

تعقم على ١٢١°م / ١٥ دقيقة ورقم الحموضة النهائى ٥,٥ – ٦,٠٠ .

جـ - بيئة آجار داى كلوران وروزبنجال وكلورامفينيكول

Dichloran rosebengal chloramphenicol agar

جلوكوز	١٠ جرامات
ببتون	٥ جرامات
فوسفات احادى البوتاسيوم	واحد جرام
كبريتات مغنسيوم	٠,٥ جراماً
آجار	١٥ جراماً
روزبنجال	٢٥ ملليجرام
داى كلوران	٢ ملليجرام
كلورامفينيكول	١٠٠ ملليجرام
ماء مقطر	لتر واحد

تعقم على ١٢١° / ١٥ دقيقة ورقم الحموضة النهائى ٥,٥ - ٥,٨. يجب حفظ البيئة بعيداً عن الضوء.

٣- بيئات تنمية عامة للخمائر :

أ- بيئة أجار التربتون والجلوكوز ومستخلص الخميرة **Tryptone glucose yeast extract agar**:

جلوكوز	١٠٠ جرام
تربتون	٥ جرامات
مستخلص خميره	٥ جرامات
كلورامفينيكول	٠,١ جراماً
اجار	١٥ جراماً
ماء مقطر	لتر واحد

تعقم على ١٢١°م / ١٠ دقائق، ورقم الحموضه النهائى ٥,٥ - ٦,٠٠ .

ب ـ آجار أوكسى تتراسيكلين والجلوكوز ومستخلص الخميرة

Oxytetracycline glucose yeast extract agar :

جلوكوز	٢٠ جراماً
مستخلص خميره	٥ جرامات
اجار	١٥ جراماً
أوكسى تتراسيكلين	١٠٠ ملليجرام

تعقم على ١٢١°م / ١٥ دقيقة، ويضاف أوكسى تتراسيكلين بعد التعقيم. رقم الحموضة النهائى ٦,٨ - ٧,٢.

جـ ـ بيئة آجار مستخلص المولت **Malt extract agar :**

مستخلص مولت	٢٠ جراماً
ببتون	جرام واحد
جلوكوز	٢٠ جراماً
آجار	٢٠ جراماً
ماء مقطر	لتر واحد

تعقم على ١٢١°م/ ١٥ دقيقة. رقم الحموضه النهائى ٥,٦.

بيئات لتنمية الفطريات المحبة للضغوط الأسموزية العالية : Xerophilic fungi :

أ- بيئة اجار مستخلص المولت ومستخلص الخميرة المحتوى على ٥٪ أو ١٠٪ ملح طعام (كلوريد الصوديوم) و ١٢٪ جلوكوز.

Malt extract yeast extract α 5% (or 10%) salt and 12% glucose agar :

مستخلص مولت	٢٠ جراماً
مستخلص خميرة	٥ جرامات
كلوريد صوديوم	٥٠ جراماً (أو ١٠٠ جرام)
جلوكوز	١٢٠ جراماً
آجار	٢٠ جراماً
ماء مقطر	لتر واحد

تعقم على ١٢١°م/ ١٠ دقائق بالغلي لمدة ٣٠ دقيقة.

ب - بيئة آجار مستخلص المولت ومستخلص الخميرة المحتوى على ٧٠٪ جلوكوزاً وفركتوزاً. **Malt extract yeast extract, 70% glucose, fructose agar :**

مستخلص مولت	٦ جرامات
مستخلص خميرة	١,٥ جراماً
آجار	٦ جرامات
ماء مقطر	٣٠٠ ملليلتر
فركتوز	٣٠٠ جرام
جلوكوز	٣٠٠ جرام

يتم الغليان بإذابة المكونات لمدة ٣٠ دقيقة، ولا تحتاج تعقيم بعد ذلك، وتحتا حوالى ٢٤ ساعة بعد الصب لكى يصبح قوامها سميكاً.

ملحق (١) : المراجع

Aiba, S.; Humphrey, A.E. and Millis, N.F. (1973). Biochemical Engineering. 2ed Ed. Univ. Tokyo Press, Japan.

Anke, T. and Steglish, W. (1988). New Biological Active compounds from basidiomycetes. Forum Mikrobiol. 11:21 - 28.

Bains, W. (1993). Biotechnology from A to Z. Oxford Univ. Press England.

Bartnicki - Garcia, S.C. (1968). Cell wall chemistry, morphogenesis and taxonomy of fungi. Ann. Rev. Microbiol. 22:87 - 108.

Borel, J.F. (1983). Cyclosporine: historical perspectives. In Kahan, B.D. (ed): Cyclosporine: Biological activity and clinical applications. Transplantation Proceedings 15;3 - 13.

Boysen, M.; Skouboe, P.; Frisvad, J. and Rossen, L. (1996). Reclassification of the *Peniciillium roqueforti* group into three species on the basis of molecular genetic and biochemical profiles. Microbiol. 142: 541 - 549.

Carlile, M.J. and Watkinson, S.C. (1994). The fungi. Academic Press, London, U.K.

Considine, P.J., Buckley, R. J., Griffin, T.O., Touhy, M.G. and Coughlan, M.P. (1989). A simple and inexpensive method of solid state

cultevation. Biotechnol. Tech.3: 85- 90.

Crittenden P.D. and Porter, N. (1991). Lichen - forming fungi; Potential sources of novel metabolites. Trends Biotechnol. 9, 409 - 414.

Crueger, W. and Crueger, A. (1990). Biotechnology: A Textbook of Industrial Microbiology. 2ed Ed. Sinauer Assoc. Inc., Sunderland, MA, U.S.A.

Deken, de, R.H. (1966). The Crabtree effect: A regulatory system in yeast. J. Gen. Microbiol. 44: 149 - 156.

Dill, I. and Kraepelin, G, (1988). Degradation of lignin / cellulose by white rot fungi. influence of specific ecological factors. Forum Mikro biologie, 11: 484 - 489.

Esser,K and Mohr, G. (1990). Stammverbesserung von Hyphenpilzen durch die Gentechnik: Fakten und Perspectiven. Bioengineering 6 (5): 44 - 55.

Fakoussa, R.M. (1992). Coal biotechnology. Bioengineering, 8 (4): 21 - 28.

Gray, W.D. (1973). The use of fungi as food and in food processing. The chemical Rubber Co. Ohio, USA.

Haider, K. (1988). The microbial degradation of lignin and its role in the carbon cycle. Forum Mikrobiol. 11: 477 - 483.

Harlander, S.K. and Labuza T.P. (Eds) (1986). Biotechnology in Food Processing. Noyes Publications, New Jersey, U.S.A

Hudson, H,J. (1986). Fungal biology. Edward Arnold (Pub). Ltd. London, Uk.

Ikeno, Y.;Masuda, M., Tanno, K., Oomori, I. and Takahashi, N. (1975).

Citric acid production from various raw materials by yeasts. J. Ferment. Tech. 53: 752 - 756.

Jaeger, A, and Wandrey, Chr. (1990). Production of ligninperoxidases in a fixed bed loop reactor. Forum Mikrobiol. 13: 410 - 417.

King, R.D. and Cheetham, P.S.J. (Eds) (1986). Food Biotechnology -1. El - Sevier Appl. Sci. Publ. London, U. K.

Kirsop, B.E. and Doyle, A. (Eds) (1991). Mainterance of microorganisms and cultured cells: A manual of laboratory methods. 2ed. Ed. Academic Press, London. U.K.

Laatsch, H. (1990). Toxins of edible fungi. Forum Mikrobiol. 13: 460 - 465.

Larone, D.H. (1993). Medically important fungi - a guide to identification. American Society for Microbiology. Washington, USA.

Lommi, H,; Groenqvist, A. and Pajunen, E. (1990). Immobilized yeast reactor speeds beer production. Food Technol. 44 (5): 128 - 133.

McNeil, B. and Harvey, L. M. (Ed). (1990). Fermentation: A practical Approach. Oxford Univ. Press, U.K.

Moat, A.G. and Foster, J. W. (1995). Microbial Physioloy. 3rd. Ed. Wiley - Liss, New York.

Molimard, P. and Spinnler, H.E. (1996). Compounds involved in the flavour of surface mold ripend chesses: origins and properties. J. Dairy Sci. 79: 169 - 184.

Moss, M.O. (1987). Fungal biotechnology round up. The Mycologist, 21 (2): 55 - 58.

Mounter,J., (1977). Deying with fungi. Mycologist, 11 (4): 175.

Onions, A.H.S; Allsopp, D. and Eggins, H.O.W. (1981). Smith's Introduction to industrial mycology. Edward Arnold Pubi., U.K.

Panitz, C., Frost, P. and Kunz, B. (1991). Pigment formation and biomass production of *Monoascus purpureus* in synthetic media. Bioengineering, 7 (5): 70 - 75.

Peberdy, J.F. (1987). Developments in protoplast fusion in fungi. Microbilol. Sci. 4: 108 - 114.

Pitt, J.I. and Hocking, A.D. (1997). Fungi and food spoilage. 2ed Ed. Blackie Academic and Professional, London, U.K.

Rehm, H.J.; Reed, G.; Puehler, A. and Stadler, P. (1993). Biotechnology. 2ed Ed. Vol. I: Biological fundamentals. VCH - Verlag, Weinheim, Germany.

Riemann, H. and Bryan, F. L. (Eds.) (1979). Food borne infections and intoxications. 2 ed Ed. Academic Press, New York.

Rose, A.H. (Ed) (1978). Alcoholic beverages. Economic Microbiol.Vol.1 Academic Press, London.

Rose, A.H. (ED) (1978). Primary products of metabolism. Economic Microbiology Vol.2. Academic Press. London.

Rose, A.H. (Ed). (1980). Microbial Enzymes and bioconversion. Economic Microbiology Vol. 5. Academic Press., London.

Rose, A.H. (Ed) (1981). Microbial Biodeterioration. Economic Microbilolgy Vol. 6. Academic Press, London.

Rose, A.H. (Ed) (1982). Fermented Food. Economic Microbiology. Vol. 7. Academic Press, London

Smith I.; Smith, E and Berry, D.R (1975). The filamentous fungi. Vol.1:

Industrial Mycology. Edward Arnod Publ. London, U.K.

Stanley, M.R; Turner, N.J; Willetts, A, J. and Turner, M.K (1995). Introduction to biocatalysis using enzymes and microorganisms. Cambridge Univ. Press, U.K.

Steinkraus, K.H. (1995). Handbook of indigenous fermented foods. 2 ed Ed. Marcel Dekkar Inc, Now York.

Usitalo, J.M., Nevalainen, K. M.H. Harkki, A.M. Knowles, J.K. C. and Penttila, M. E (1991). Enzyme production by recombinant *Trichoderma reesei*. J. Biotechnol. 17: 35 - 50.

Wainwrighyt, M. (1992). An introduction to fungal biotechnology. John Wiley & Sons Ltd. England.

Ward, P.O. (1989). Fermentation biotechnology. Principales, processes and products. John Wiley & Sons, Chichester, U.K.

Wood, B.J.B. (Ed). (1985). Microbiology of fermented foods. El - Sevier Appl. Sci. Publ. London, U.K.

Xu, W.Q and Hang, Y.D (1988). Roller culture technique for citric acid production by *Aspergillus niger*. Process Biochem. August 1988, 117 - 118.

(ملحق ٢): أمثلة لبعض الفطريات ذات الأهمية الصناعية

تهتم بعض المراكز العلمية وبنوك الفطريات في شتي إنحاء العالم بتوفير سلالات فطرية متخصصة في انتاج بعض المنتجات الحيوية ذات الإهمية الصناعية، حيث تأخذ مثل هذه السلالات الفطريات أرقاماً محددة يسبقها اختصار أسم المركز العلمي أو مثل هذه البنوك الفطرية.

وتتباين أسعار مثل هذه العزلات الفطرية تبعاً لنوعها ومصدرها، وفيما يلى أهم هذه المراكز العلمية وبنوك الفطريات التى يمكن الاتصال بها على شبكة الانترنت:

DSMZ: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
Masheroder weg 1b, D - 38124 Brawnschweig, Germany. E - mail: dsmz @ gbf. de.

ATCC: American Type Culture Collection,
12301 Parklawn Drive, Rockville, Maryland 20852. U.S.A
E - mail: request @ atcc.org

CBS: Centraalbureau voor Schimmelcultures
P.O. Box 273, NL - 3740 AG Baarn, The Netherlands.
E - Mail: info @ cbs. knaw. nl

MUCL: Mycoteque de l'universite' Catholique de Louvain
Place Croix du sud 3, Bte6
B - 1348 Louvain - la - Neuve, Belgium

أمثلة لبعض الفطريات المستخدمة
فى إنتاج بعض المنتجات ذات الأهمية الصناعية

المنتج	الفطر المستخدم
Ethanol ايثانول	*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763, CBS 5900 MUCL 30115 NRRLY - 567
Carotenoides كاروتينويدات	*Acremonium diospyui* ATCC 9066, CBS 13151 *Phycomyces blakesleeanus* ATCC 8743b
Cephalosporin C سيفالوسبورين س	*Acremonium chrysogenum* ATCC 14553, ATCC, 11550, CBS 77969 *Emercellopsis microspora* ATCC 14645, CBS 38062
Cephalosporin P سيفالوسبورين ب	*Acremonium chrysogenum* ATCC 14615, CBS 14462
Citic acid حمض الستريك	*Aspergillus niger* ATCC, 6275, CBS 13152 *Brettanomyces lambicus* ATCC 10563, CBS 75, DSMZ 70742 *Candida tropicalis* CBS 6957

Pichia halophila ATCC 24240, CBS 2028, DSMZ 70365	
Penicillium brevicompactum ATCC 4056, CBS 25729	Ergosterol ارجوستيرول
Saccharomyces cerevisia ATCC 4017 ATCC 9018 MUCL 20201, MUCL 20202 MUCL 20463	Ale beer البيرة صنف Ale
Saccharomyces carlsebergensis MUCL 20478, MUCL 28791, MUCL 28799	Lager beer البيرة صنف Lager
Saccharomyces crevisiae MUCL 29248 *Aspergillus foetidus* ATCC 10254, CBS 12648 *Aspergillus oryzae* ATCC 11489, CBS 12559	α - amylase ألفا اميليز
Aspergillus awamori ATCC 22342, NRRL 3112 *Aspergillus niger* ATCC 22343, NRRL 3122	Amyloglucosidase اميلوجلوكوسيديز
Blakeslea trispora ATCC 14271	ß - carotene بيتا كاروتين
Aspergillus niger ATCC 1004 *Chaetomium globosum* ATCC 6205, CBS, 14851 *Myrothecium verrucaria* ATCC 9095, CBS 32852 *Trichoderma longibrachiatum* MUCL 1045	cillulase سليوليز

Penicillium camemberti MUCL 18985. ATCC 4845	Camembert cheese الجبن الكاممبرت
Penicillium caseicalum ATCC 6986 *Penicillium roquefortii* ATCC 6987, ATCC 10110	Roquefort cheese الجبن الروكفور
Saccharomyces cerevisiae ATCC 36029	Cider نبيذ التفاح
Claviceps purpurea ATCC 14934 *Claviceps purpurea* ATCC 20106 *Claviceps purpurea* ATCC 20103 *Claviceps purpurea* ATCC 20102 *Claviceps paspali* ATCC 34500 *Claviceps paspali* ATCC 13892	قلويدات الارجوت Ergocornine Ergocristine Ergocryptine Ergoline Lysergic arid
Eupenicillium javanicum ATCC 9099 *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 12341	انتاج الدهون
Aspergillus awamori ATCC 44733 *Candida utilis* ATCC 42402 *Neurospoya crassa* ATCC 26187	Invertose الإنفرتيز
Rhizopus oryzae ATCC 10260	Fumaric acid حمض الفيوماريك
Calcarisporium antibioticum ATCC 42458 *Aspergillus niger* ATCC 16888	Fusidic acid حمض الفيوسيديك Gallic acid حمض الجاليك
Gibberella fujikuroi ATCC 12616, ATCC 14164	حمض الجبريليك والجبريلين Gibberlic acid & Gibberellin
Aspergillus niger ATCC 9029 *Penicillium chrysogenum* ATCC 10107	Gluconic acid حمض الجلوكونيك

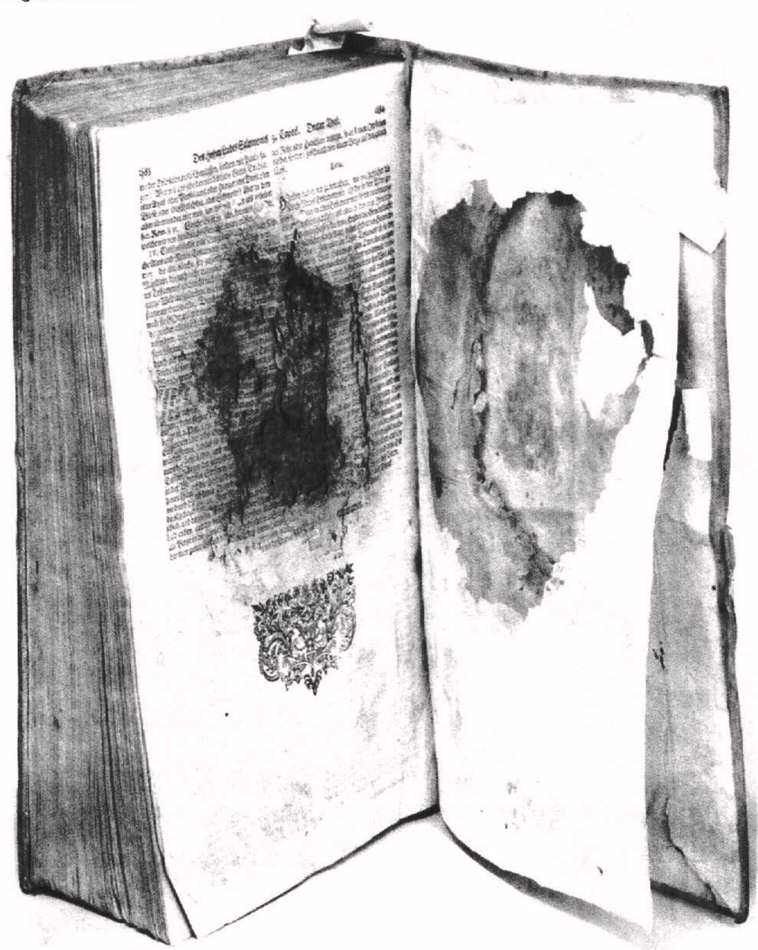
Aspergillus niger ATCC 9029	Glucose oxidase جلوكوز اكسيديز
Saccharomyces cerevisiae ATCC 13356	Glycerol جلسرول
Penicillum griseofulvum ATCC 11885	Griseofulvin جريسيوفولفين
Kluyveromyces marxianus var. lactis ATCC 8585, CBS 2359	ß - galactosidase بيتا جالاكتوسيديز
Aspergillus terreus ATCC 10029	Itaconic acid حمض ايتاكونيك
Aspergillus oryzae ATCC 11489, CBS 12559	Kojic acid حمض الكوجيك
Aspergillus foetidus ATCC 10254, CBS 12648 *Yarrowia lipolytica* ATCC 34088	Lipase ليبيز
Fusarium oxysporum ATCC 10960	Malic acid حمض الماليك
Yarrowia lipolytica ATCC 20297	Mannitol مانيتول
Aspergillus oryzae ATCC 26666 *Saccharomyces rouxii* ATCC 46494	Miso ميزو
Ceratocystis moniliformis ATCC 12861	monoterpenes التربينات الاحادية
Hebeloma crustuliniforme MUCH 20916 *Laccaria laccata* MUCL 28894	Mycorrhizae ميكروهيزا
Candida valida ATCC 14927 *Rhodotorula pllida* ATCC 14926	5 nucleotides النيوكليوتيدات
Aspergillus japonicus ATCC 20236 *Aspergillus sojae* ATCC 20235	الأنزيمات المحللة للبكتين Pectolytic enczymes
Penicillium aurantiogriseum ATCC 2731, CBS 14445	Penicillic acid حمض البنسيليك
Penicillium chrysogenum ATCC 10106, CBS 30648	Penicillin البنسلين

Acremonium chrysogenum ATCC 14553	البنسلين (تابع)
Agaricus bisporus ATCC 24558 *Pholiota adiposa* CBS 27929, MUCL 7900 *Pholiota aurivella* CBS 11818, MUCL 7897 *Pleurotus colombinus* MUCL 28154, MUCL 28785 *Pleurotus ostreatus* MUCL 28511, MUCL 28786 *Pleurotus pulmonarius* MUCL 28783, MUCL 28784 *Lentinus edodes* MUCL 28740, MUCL 28804 *Stropharia ferrii* MUCL 28743	**Mushroom** عيش الغراب
Saccharomyces cerevisise MUCL 28749	**Bread** الخبز
Doratomyces purpureofuscus ATCC 16224, CBS 52363 *Phanerochaete chrysosporium* ATCC 24725, CBS 48173	**Lignin hydrolysis** تحليل اللجنين
Aureobasidium pullulans ATCC 9348, MUCL 19020	**Pullulan** انتاج البوليولان
Ashbya gossypii ATCC 10895, CBS 10951 *Candida membranefaciens* DSMZ 70109	**Riboflavin** انتاج الريبوفلافين
Monoascus purpureus ATCC 6405 ATCC 16362, CBS 285, 34	**red color** الصبغة الحمراء
Aspergillus oryzae ATCC 20386	**acid protease** بروتييز حامضى

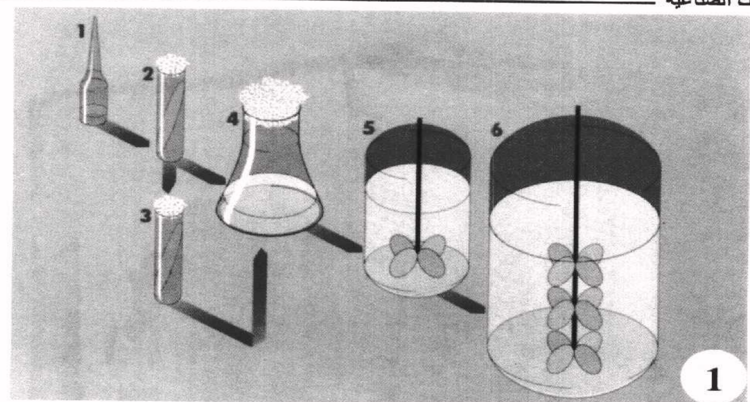
Rhizomucor pusillus ATCC 56683 *Talaromyces thermophilus* ATCC 20186	بروتييز حامض (تابع)
Acremonium kiliense ATCC 20337 *Rhizomucor pusillus* ATCC 56683	akaline protease بروتيز قلوى
Aspergillus oryzae ATCC 20386, ATCC 26666 *Saccharomyces rouxii* ATCC 14462	انتاج صوص الصويا Soy sauce
Endothia parasitica ATCC 14729	Renin الرنين
Sclerotium glucanicum ATCC 46347	Scleroglucan سيكليروجلوكان
Aspergillus rugulosus ATCC 16820 *Aspergillus versicolor* ATCC 18643	Sterigmatocystin سترجماتوسستين
Aspergillus niger ATCC 11394 *Curvularia lunata* ATCC 12017 *Epicoccum humicola* ATCC 12722 *Gibberella fujikuroi* ATCC 14842 *Kloekera javanica* ATCC 20112 *Rhizopus stolonifer* ATCC 15441 *Thamnidium elegans* ATCC 18191	تحولات المركبات السترويديه Steroid transformation
Rhizopus oligosporus ATCC 22959	Tempe التمبى
Saccharomyces cerevisia ATCC 4098	white wine النبيذ الأبيض
Saccharomyces cerevisiae ATCC 4097	Champagne الشمبانيا
Saccharomyces bayanus ATCC 13055	Sherry الشيرى
Pichia farinosa ATCC 20210	Xylitol الزيليتول
Gribberella zeae ATCC 20028	Zearalinone الزيرالينون

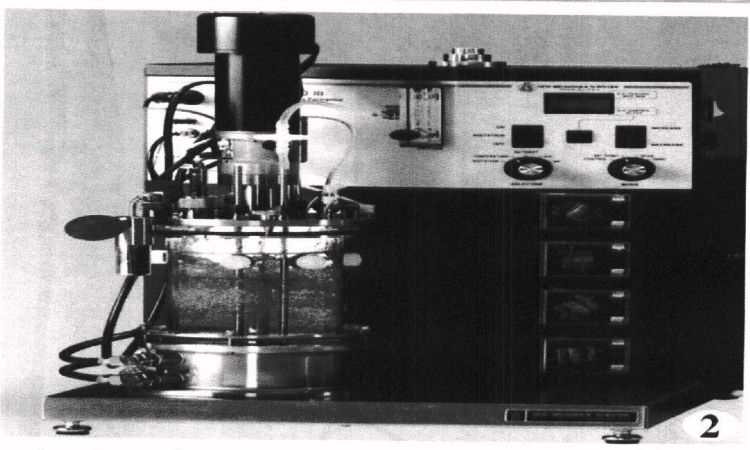

ملــزمــة ملــونــة





لوحة ملونة رقم (١): نموذج لأحد المراجع التاريخية، تعرض لهجوم الفطريات المحللة للسيليلوز والمفرزة للأحماض العضوية، وخاصة تحت ظروف إرتفاع الرطوبة النسبية.





لوحة ملونة رقم (٢) : مراحل تجهيز اللقاح الفطري (البادئ) المستخدم في الصناعة من المزرعة الفطرية إلي مرحلة التخمر.

١- مزرعة الفطر المحفوظة بالتجميد (deep- frozen stock)

٢- مزرعة الأجار المائل.

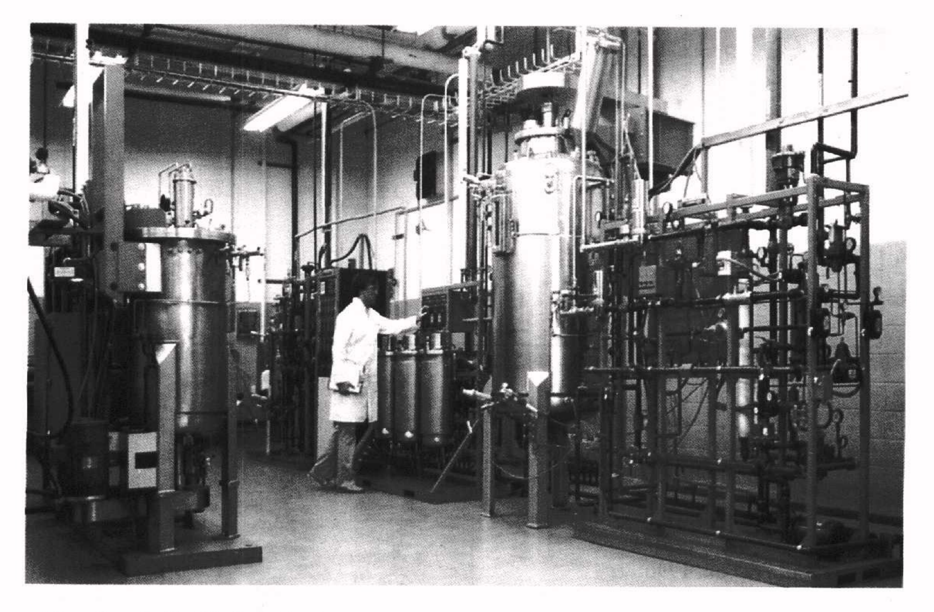
٣- مزرعة وسطية (إعادة تنشيط المزرعة الأصلية).

٤- مزرعة مهتزة

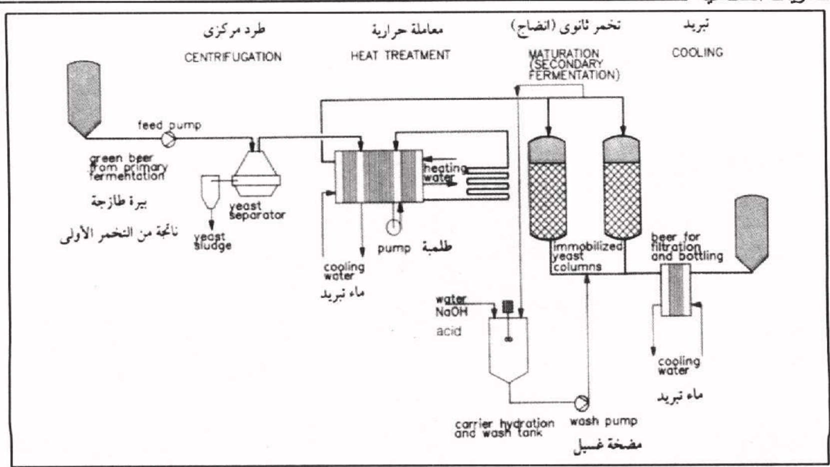
٥- مزرعة في مفاعل حيوي معملي.

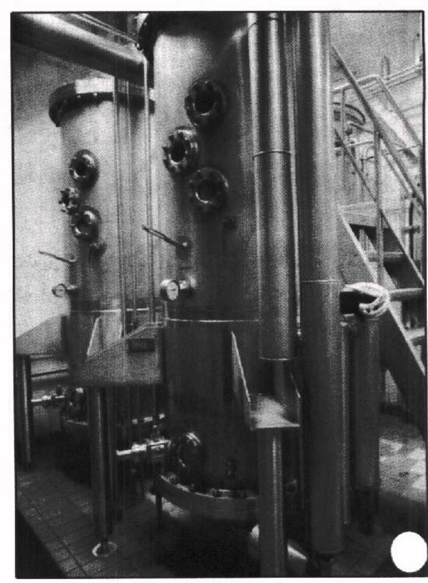
٦- مفاعل حيوي صناعي.

بينما توضح الصورة السفلي مفاعل حيوي معملي.

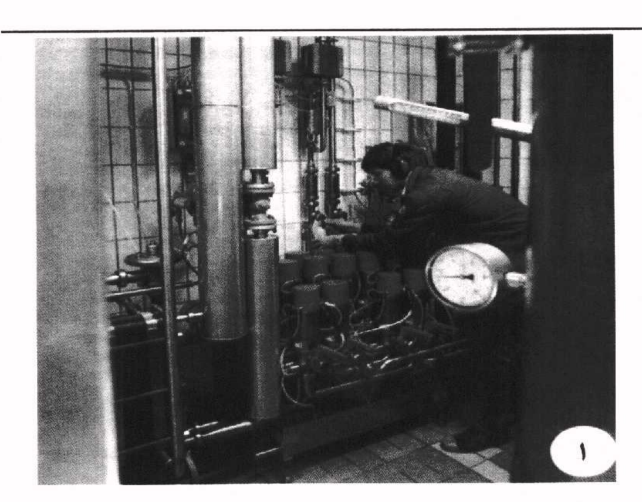


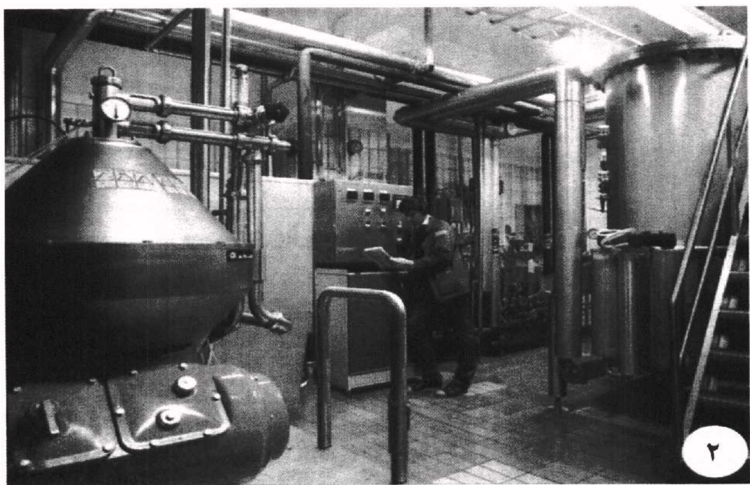
لوحة ملونة رقم (٣): منظر عام لخط تجريبي لتطوير إنتاج النموات الفطرية (الكتلة الحيوية bio-mass)، ونواتج التخمر. ويحتوي هذا الخط علي ثلاثة أوعية تخمر fermentor ذات أحجام ٧٥ لتر، و ٢٥٠ لتر، و ١٠٠٠ لتر.



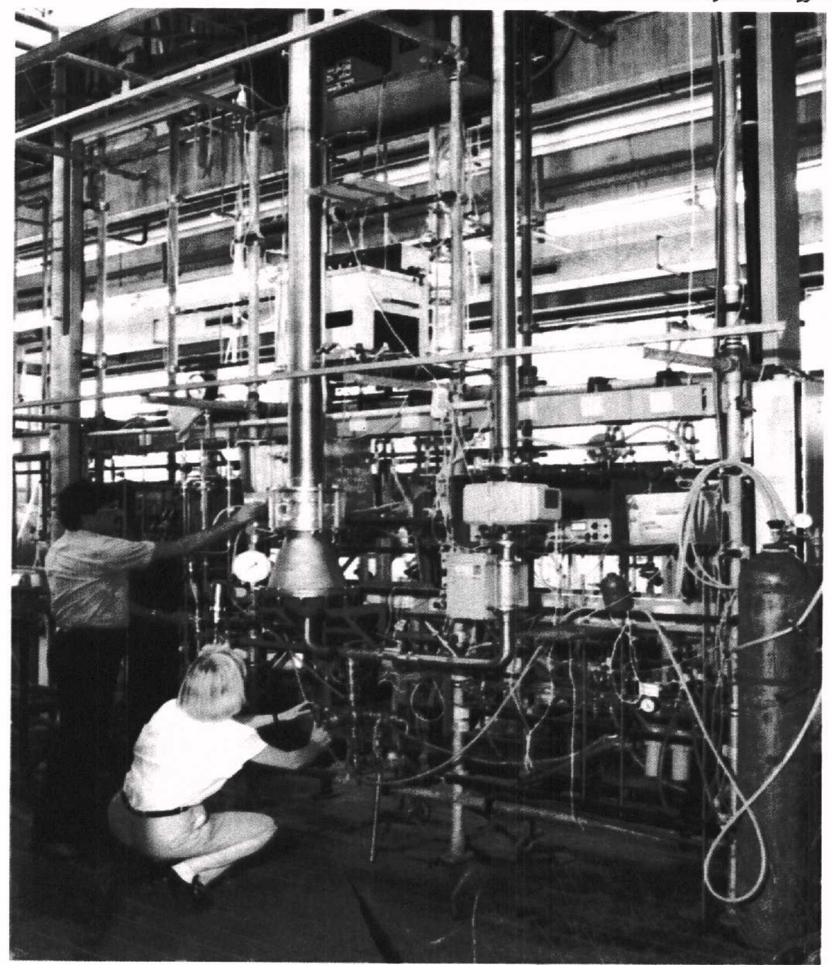


لوحة ملونة رقم (٤) : رسم تخطيطي لعملية تعتيق البيرة باستخدام مفاعل خلايا الخميرة المسكنة (عن Lommi et al., 1990) بينما توضح الصورة السفل وحدتي تخمر حجم الواحدة ١٠٠٠ لتر تستعمل في صناعة البيرة بمعدل انتاجي ١٠برميل / ساعة. (عن Lommi et al .و1990)

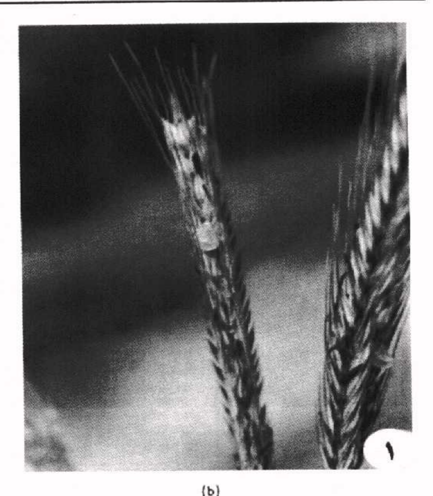




لوحة ملونة رقم (٥) : الإنتاج التجارى للبيرة (عن Lommi et al, 1990).
١ – وحدة أخذ العينات أثناء إنتاج البيرة بالخلايا المسكنة .
٢ – وحدة الطرد المركزي لإزالة خلايا الخميرة (الكتلة الحيوية) بعد المرحلة الأولى من التخمر أثناء إنتاج البيرة وقبل المعاملة الحيوية .



لوحة ملونة رقم (٦): وعاء تخمر برجي إرتفاعة عشرة أمتار يستعمل في الإنتاج التجريبي لبعض العقاقير الطبية. ويتصل بهذا الوعاء وحدات التحكم في ظروف التخمر.





(b)

(a)

٣

لوحة ملونة رقم (٧) : سنابل شيلم مصابة بمرض الأرجوت Ergot .

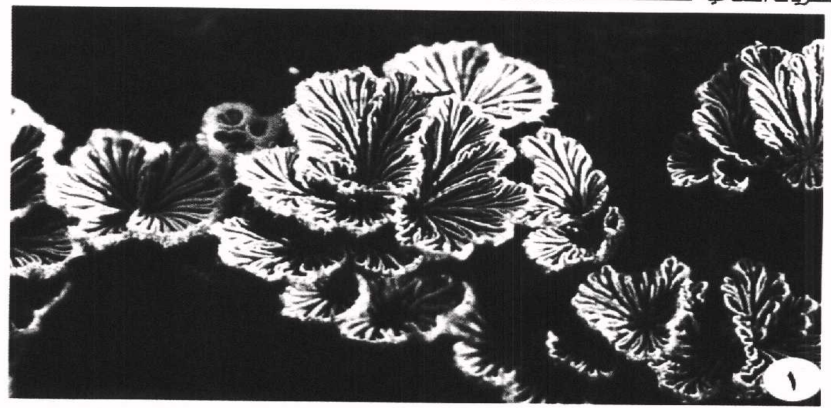
١- قطرات لزجة تظهر علي سنبلة شيلم في بداية مرحلة الإزهار.

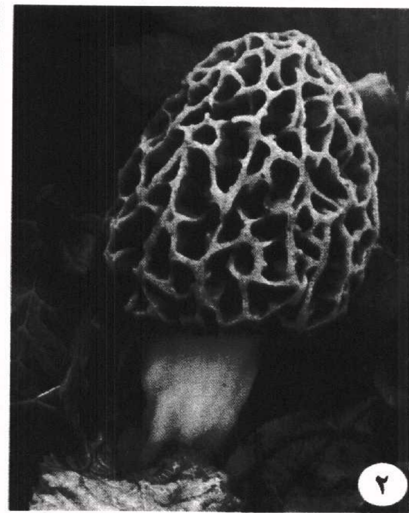
٢- سنبلة شيلم في مرحلة متقدمة من الإصابة تظهر عليها أجسام حجرية داكنة اللون، طويلة منحنية تأخذ شكل القرن.

٣- التركيب الكيميائي للمركبات الفعالة في فطر الأرجوت:

(a) = Ergometrine (b)= Ergotamine







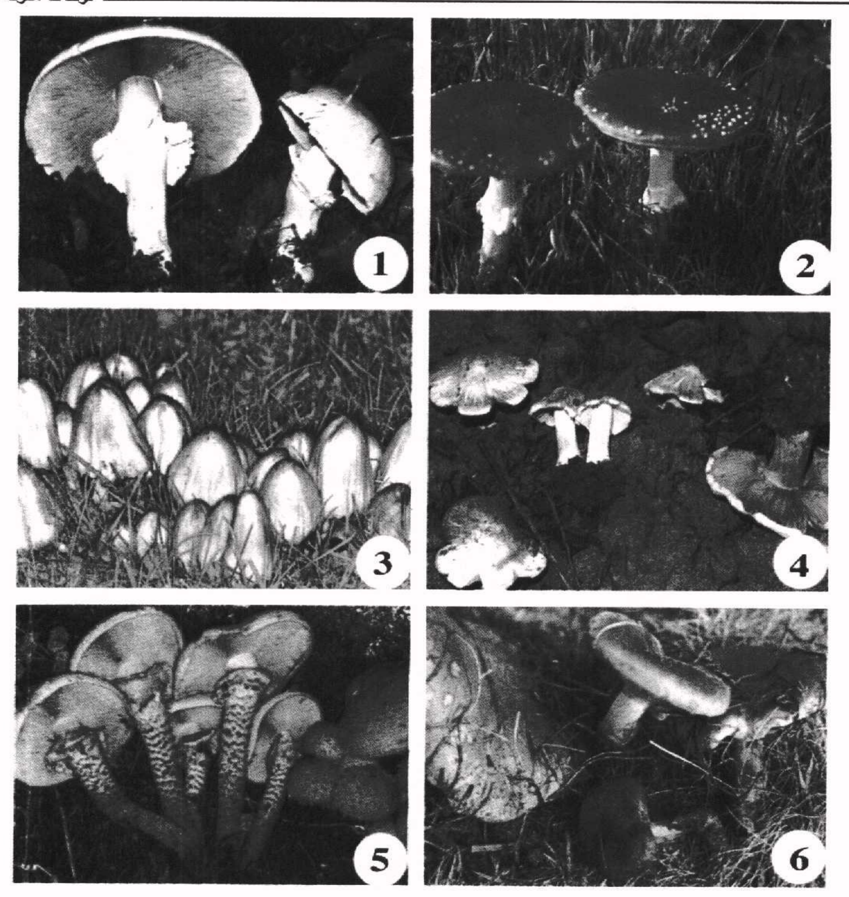


لوحة ملونة رقم (٨) : بعض أنواع فطريات عيش الغراب البرية.

١- فطر عيش الغراب المروحي *Schizophyllum commune*.

٢- فطر عيش غراب المورشيلا *Morchella*.

٣- فطر عيش الغراب الرفي **Turkey- tail- bracket fungus**.



لوحة ملونة رقم (٩): بعض أنواع فطريات عيش الغراب البرية

(1) *Agaricus silvicola* (2) *Amanita muscaria*

(3) *Coprinus atramentarius* (4) *Inocybe patouillardii*

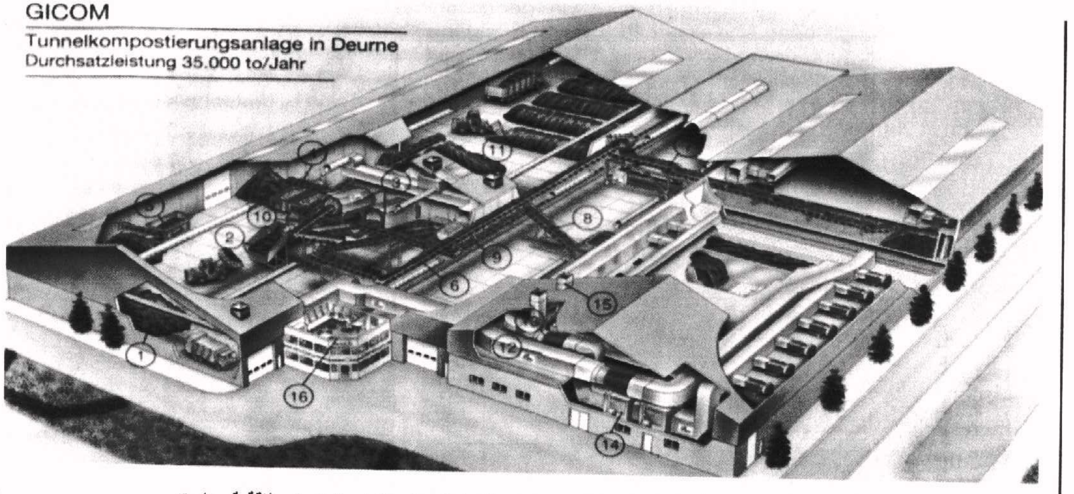
(5) *Pholiota squarrosa* (6) *Paxillus involutus*



لوحة ملونة رقم (١٠) : بعض الاستخدامات الصناعية للأنواع التابعة للجنس *Penicillium*.

A - مستحضر البنلسين من الفطر *P. chrysogenum*.

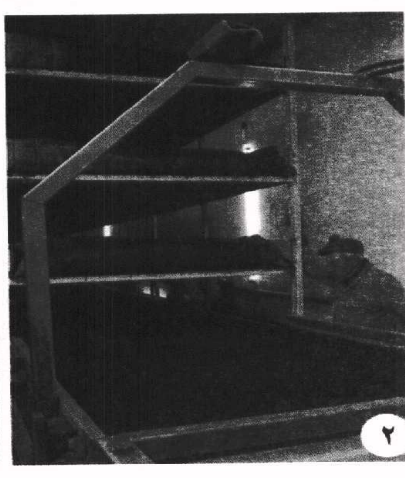
B - إنتاج الجبن الروكفور بواسطة الفطر *P. roquefortii*.

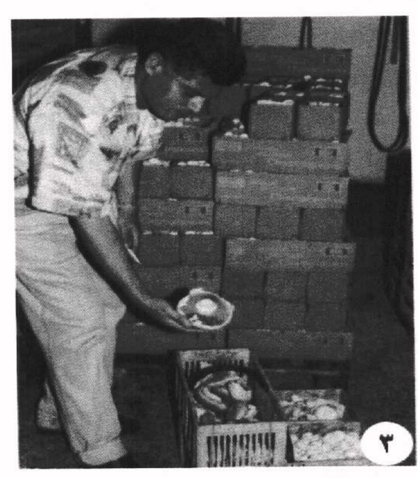


لوحة ملونة رقم (١١): نموذج لمصنع إنتاج كومبوست (لزراعة عيش الغراب العادي) بطاقة قدرها ٣٥ ألف طن كومبوست سنويـًا.

١- بوابة دخول المواد الخام.	٢- بداية خط الإنتاج (رصيف الإستلام).
٣- وحدة غربلة.	٤- نقاوة يدوية.
٥- وحدة الطحن.	٦- سير متحرك.
٧- وحدة التعبئة الآلية.	٨- وحدة التفريغ الآلية.
٩- المنتج النهائي.	١٠- فصل المخلفات.
١١- مكان لتخزين الكومبوست المجهز.	١٢- أنابيب دفع الهواء النقي.
١٣- مدخنه خروج عوادم الغازات.	١٤- مبادل حراري لتسخين الهواء.
١٥- مرشح حيوى.	١٦- حجرة الأمن والمراقبة.





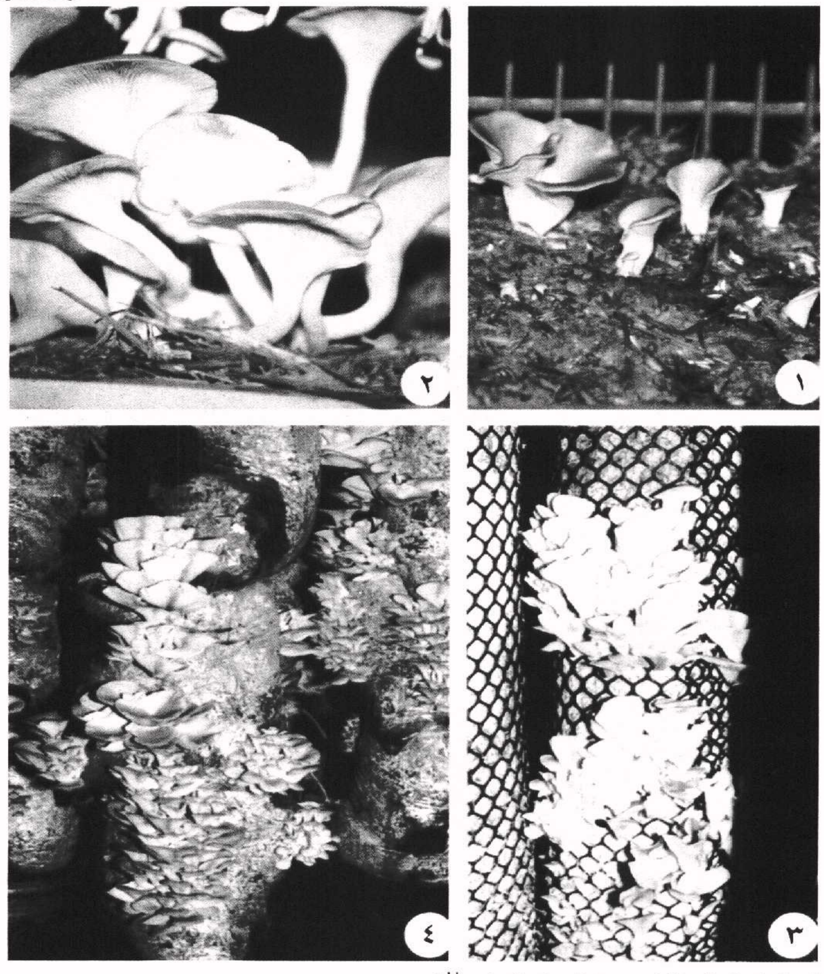


لوحة ملونة رقم (١٢) : زراعة عيش الغراب العادي.

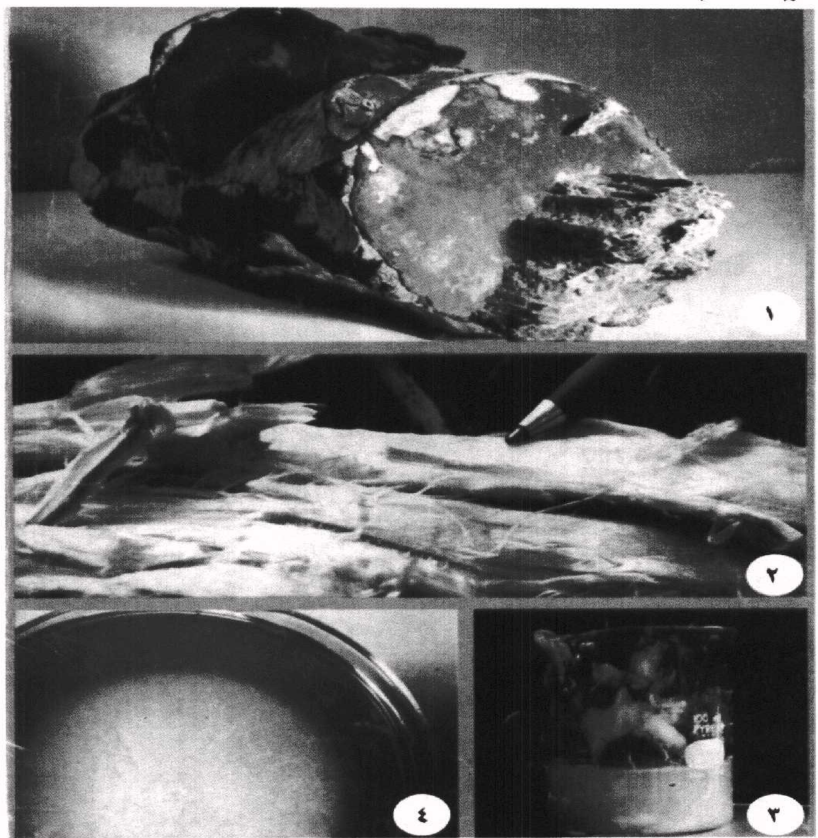
١- مزرعة عيش غراب عادي مزروع علي أرفف وحوامل معدنية.

٢- تجهيز الأرفف المعدنية وملأها بالكومبوست بعد تجهيزه.

٣- إنتاج ثمار عيش الغراب ذات درجات نضج مختلفة (ثمار متفتحة).



لوحة ملونة رقم (١٣) : زراعة عيش الغراب المحارى.
١ - مراحل مختلفة لتكوين الثمار.
٢ - ثمار ناضجة.
٣ - الزراعة فى أسطوانات مصنوعة من البلاستيك المقوى.
٤ - الزراعة فى أكياس بلاستيك شفافة.



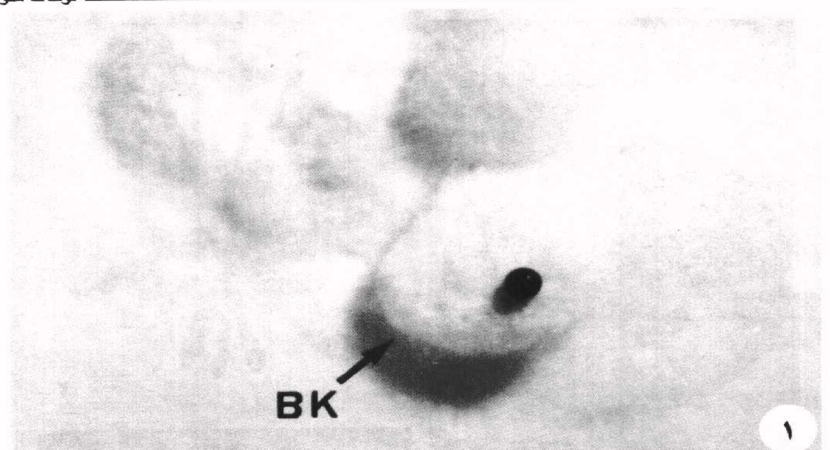
لوحة ملونة رقم (١٤)

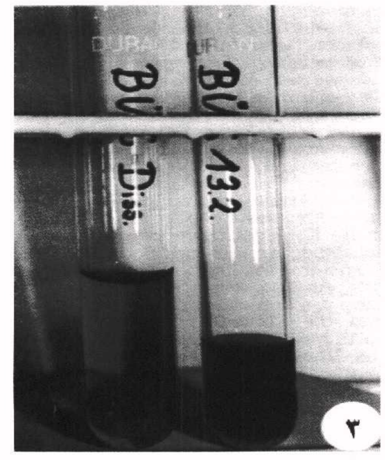
١- تحليل اللجنين بفعل فطر العفن الأبيض التابع لعيش الغراب *Fomes fomentarius*. جسم ثمري للفطر ناميًا علي جزء من الخشب الذي تحلل وتلون باللون البني.

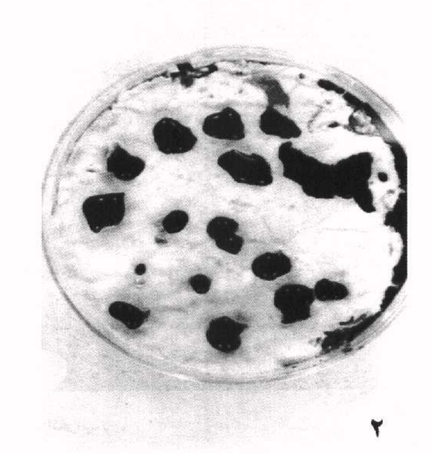
٢- عفن أبيض ناتج عن تحلل اللجنين بفعل الفطر *Ganoderma applanatum*.

٣- نمو الفطر السابق علي بيئة الجلوكوز التي تحتوي علي مصدر نتروجيني محدد للنمو، ويوضح التغير من اللون الأحمر البنفسجي إلي اللون الاصفر النتيجة الايجابية للتحلل.

٤- كأس تحتوي علي خشب خام بعد تمام تحلله بفعل الفطر السابق.

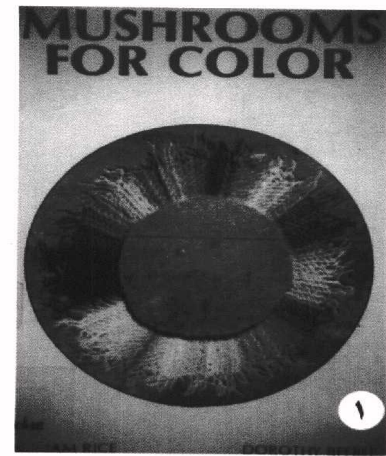


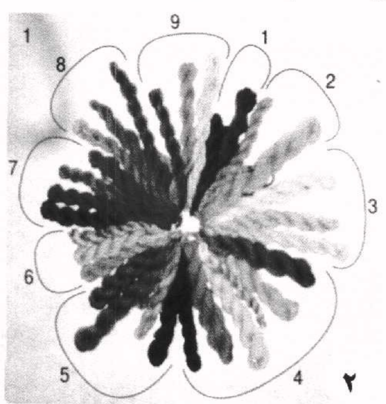


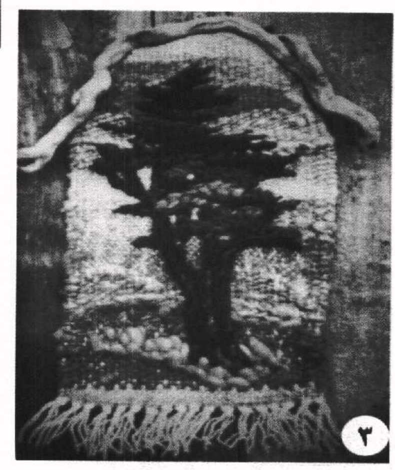


٢

لوحة ملونة رقم (١٥) : الفطريات المسيلة للفحم. توضح الصورة العليا نمو هيفات الفطر *Phanero-chaete crysosporium* علي كرة فحم (BK) ، حيث تظهر قطيرة من الفحم السائل عليها. والصورة السفلي (٢) بعد فترة من التحضين وتكوين مزيد من قطيرات الفحم السائل، وبجوارها انابيب اختبار تحتوي علي المترشح السائل بعد استكمال الفطر لتحليل الفحم (٣). (عن Fakoussa, 1992)









لوحة ملونة رقم (١٦) : صبغات من فطريات عيش الغراب.

١- غلاف أحد المراجع العلمية التي تتناول موضوع صبغات عيش الغراب.

٢- خيوط من الصوف مصبوغة ببعض صبغات فطريات عيش الغراب.

٣- لوحة فنية تم صبغها بصبغات من ثمار عيش الغراب.

٤- بلوفر تم صباغة خيوطه بصبغات من فطريات عيش الغراب.